

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA
in
Entomologia Agraria

Ciclo: XXV

Settore Concorsuale di afferenza: 07/D1

Settore Scientifico disciplinare: AGR/11

STUDIO DEI SEMIOCHIMICI COINVOLTI NELLE
INTERAZIONI INTRA- E INTER-SPECIFICHE IN *GONOCERUS*
ACUTEANGULATUS (GOEZE) (HETEROPTERA: COREIDAE) IN
VISTA DI UN LORO IMPIEGO NELLA DIFESA DEL NOCCIOLO

Presentata da: **DOTT.SSA SILVIA TERESA MORAGLIO**

Coordinatore Dottorato

DOTT.SSA MARIA LUISA DINDO

Relatore

PROF.SSA LUCIANA TAVELLA

Esame finale anno 2013

SOMMARIO

RIASSUNTO	I
ABSTRACT	II
CAPITOLO I.	1
1. INTRODUZIONE	1
1.1. <i>GONOCERUS ACUTEANGULATUS</i> (GOEZE)	1
1.1.1. DESCRIZIONE	1
1.1.2. BIOETOLOGIA.....	2
1.1.3. DANNI.....	4
1.1.4. DIFESA.....	6
1.2. SEMIOCHIMICI.....	7
1.2.1. FEROMONI DEGLI ETERTOTTERI	7
1.2.2. ALLELOCHIMICI	9
1.2.3. IMPIEGO IN AGRICOLTURA	10
1.3. OBIETTIVI GENERALI.....	11
CAPITOLO II.	12
2. STUDIO DEL COMPORTAMENTO ALIMENTARE SU NOCCIOLO	12
2.1. PREMESSA.....	12
2.2. MATERIALI E METODI.....	13
2.2.1. ALLEVAMENTO DI <i>GONOCERUS ACUTEANGULATUS</i>	13
2.2.2. PRODUZIONE DI NOCCIOLE SANE E CIMICIAE	15
2.2.3. ANALISI SENSORIALI	16
2.3. RISULTATI.....	18
2.3.1. ALLEVAMENTO DI <i>GONOCERUS ACUTEANGULATUS</i>	18
2.3.2. PRODUZIONE DI NOCCIOLE SANE E CIMICIAE	18
2.3.3. ANALISI SENSORIALI	19
2.4. DISCUSSIONE	21
CAPITOLO III.	23
3. STUDIO DEI FEROMONI	23
3.1. PREMESSA.....	23
3.2. MATERIALI E METODI.....	23
3.2.1. ESTRAZIONE DELLE SOSTANZE VOLATILI EMESSE DA <i>G. ACUTEANGULATUS</i>	23
3.2.2. BIOSAGGI IN OLFATTOMETRO	26
3.2.3. BIOSAGGI IN ELETTROANTENNOGRAFO	30
3.2.4. PROVE IN SEMI-CAMPO.....	33
3.2.5. PROVE IN CAMPO	35
3.3. RISULTATI.....	37
3.3.1. ESTRAZIONE DELLE SOSTANZE VOLATILI EMESSE DA <i>G. ACUTEANGULATUS</i>	37
3.3.2. BIOSAGGI IN OLFATTOMETRO	38
3.3.3. BIOSAGGI IN ELETTROANTENNOGRAFO	41
3.3.4. PROVE IN SEMI-CAMPO.....	45
3.3.5. PROVE IN CAMPO	46
3.4. DISCUSSIONE	49
CAPITOLO IV.	52
4. STUDIO DEI SEMIOCHIMICI INTER-SPECIFICI	52
4.1. PREMESSA.....	52
4.2. MATERIALI E METODI.....	53

4.2.1. RILIEVO DELLE PIANTE OSPITI.....	53
4.2.2. PROVA IN CAMPO	54
4.3. RISULTATI.....	55
4.3.1. RILIEVO DELLE PIANTE OSPITI.....	55
4.3.2. PROVA IN CAMPO	56
4.4. DISCUSSIONE	58
CAPITOLO V.....	60
5. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE	60
BIBLIOGRAFIA.....	62

RIASSUNTO

Gonocerus acuteangulatus (Hemiptera: Coreidae) è considerato uno dei principali fitofagi del nocciolo, in grado di causare con l'attività trofica pesanti perdite quali-quantitative di produzione. Nel triennio sono state quindi condotte indagini sulla bioetologia di *G. acuteangulatus* volte a: I) studiare comportamento alimentare ed effetti sulla produzione corilicola, II) identificare i feromoni e valutarne l'attività mediante biosaggi fisiologici e comportamentali in laboratorio, semi-campo e campo, III) rilevare le piante ospiti alternative al nocciolo. Mediante isolamento di adulti del coreide su rami di nocciolo con frutti è stata confermata l'assenza di correlazione fra entità del danno e numerosità degli individui presenti in corileto. Dalle analisi sensoriali su nocciole sane e danneggiate è emerso che le alterazioni causate delle punture di nutrizione sono rese più evidenti da conservazione e tostatura. Variazioni di tempi e temperature di tostatura potrebbero mitigare gli effetti del cimiciato. Nello studio dei feromoni, *G. acuteangulatus*, molto mobile nell'ambiente, è risultato poco adatto ai biosaggi in condizioni artificiali, come quelle in olfattometro e semi-campo. Le femmine sono tuttavia apparse attrattive per adulti di entrambi i sessi, mentre la miscela feromonale sintetizzata ha mostrato un'azione attrattiva, seppure non costante. Pertanto, ulteriori ripetizioni sono necessarie per convalidare questi risultati preliminari, modificando le condizioni di saggio in relazione alle caratteristiche della specie. Infine è stata accertata la preferenza del fitofago per alcune specie vegetali rispetto al nocciolo. Nel corso del triennio, popolazioni molto consistenti di *G. acuteangulatus* sono state rilevate su bosso, ciliegio di Santa Lucia, rosa selvatica, sanguinello, spino cervino, in corrispondenza del periodo di comparsa e maturazione dei frutti. Nell'impostazione di una strategia di difesa a basso impatto ambientale, l'attrattività di queste piante, in sinergia con eventuali feromoni di aggregazione, potrebbe essere utilmente sfruttata, per mantenere il coreide lontano dalla coltura.

ABSTRACT

Gonocerus acuteangulatus (Hemiptera: Coreidae) is one of the main hazelnut pest, responsible for detrimental effects on yield quality and quantity with its feeding activity. The three-year-research on bio-ethology of *G. acuteangulatus* was carried out to: i) study feeding behaviour and its effects on hazelnut yield, ii) identify pheromones and evaluate their activity in physiological and behavioural bioassays in laboratory, semi-field and field conditions, and iii) detect alternative host plants. Encaging adults on hazel branches with fruits allowed to confirm the absence of correlation between damage rate and number of individuals in the hazel orchard. Sensory tests on damaged and undamaged kernels pointed out that alterations due to bug feeding activity were more perceived following storage and roasting. Variation in roasting time and temperature could reduce damage effects. To evaluate behavioural responses to pheromones, laboratory and semi-field conditions, as for olfactometer, were not altogether suitable for *G. acuteangulatus*, very mobile in the natural environment. However, females were attractive for both sexes, while the synthetic pheromone blend showed a changeable attractiveness. Therefore, further replications are needed to validate these preliminary results, modifying bioassay conditions in relation to the species characteristics. Lastly, bug preference for some plant species compared with hazel was assessed. In the three-year-surveys, very abundant populations of *G. acuteangulatus* were found on box, St Lucie cherry, wild rose, common dogwood and buckthorn, during fruit ripening. To implement an environmentally-friendly control strategy, plant attractiveness, together with synergic activity of aggregation pheromones, could be usefully exploited to keep the bug away from the crop.

CAPITOLO I.

1. INTRODUZIONE

1.1. GONOCERUS ACUTEANGULATUS (GOEZE)

Gonocerus acuteangulatus (Goeze) (Hemiptera: Coreidae), specie euroturanica (Genduso e Mineo, 1974b), è uno dei principali fitofagi del nocciolo in Turchia (Tuncer, 2009), dove si realizza la maggior produzione di nocciole in guscio a livello mondiale (FAOSTAT, 2011). In Italia, secondo paese produttore nel mondo (FAOSTAT, 2011), il coreide è diffuso e preoccupante nelle principali regioni corilicole: Lazio (Scortichini, 2006), Campania (Viggiani e Mazzone, 1976; Mazzone e Ragozzino, 2006), Piemonte (Tavella e Giannetti, 2006; Moraglio *et al.*, 2009), Sicilia (Siscaro *et al.*, 2006), mentre non è stato rilevato in Sardegna (Fiori *et al.*, 2006).

La maggior parte degli studi sul coreide sono stati condotti nei decenni passati in Italia nelle regioni meridionali, in particolare in Sicilia (Boselli, 1932; Genduso e Mineo, 1972, 1974a, 1974b; Viggiani e Mazzone, 1976; Burgio *et al.*, 1982), dove *G. acuteangulatus* è sempre stato considerato un fitofago “chiave”, soprattutto per le perdite di produzione dovute all’aborto traumatico causato dall’attacco precoce dei frutti (Boselli, 1932). A partire dagli anni ’90 del secolo scorso la specie, da sempre riportata come occasionale, è andata espandendosi anche nelle aree corilicole del Piemonte, dove contemporaneamente è stato osservato un incremento di frutti avariati alla raccolta (Tavella *et al.*, 2001a, 2001b).

1.1.1. DESCRIZIONE

La morfologia di tutti gli stadi preimmaginali (uovo, due stadi neanidali, tre stadi ninfali) e immaginali è stata dettagliatamente descritta da Boselli (1932).

Uovo: appena deposto è di colore bianco paglierino, in seguito assume un colore dorato. La forma è sub-ovale con il polo anteriore lievemente più acuto; sul lato ventrale presenta nella parte centrale un rilievo anulare color marrone che

costituisce la superficie di appoggio. Misura circa 2,0 mm di lunghezza e 1,3 mm di larghezza (Figura 1a).

Neanide di I età: ha il capo e le regioni dorso-laterali del torace di colore bruno rossiccio, pro- e meso-sterno giallastri e rossastri, meta-sterno interamente giallastro. Le antenne sono lunghe poco meno del corpo, che misura 2,5-3,0 mm di lunghezza; i primi due antennomeri sono di colore più scuro, con sfumature rossicce. Le zampe bruno-rossastre presentano lunghezza e spessore pressoché uguali tra loro (Figura 1b, c).

Neanide di II età: differisce dalla prima età per l'attenuazione della pigmentazione rosso vermiglio, rostro più allungato e antenne decisamente più lunghe del corpo.

Ninfe di III, IV e V età: i tre stadi ninfali si differenziano soprattutto per la lunghezza degli abbozzi alari mesotoracici: decisamente ridotti nella prima età, raggiungono il secondo urotergite nella seconda età e oltrepassano il terzo urosternite nella terza età (Figura 1d).

Adulto: ha il dorso di colore marrone chiaro con sfumature violacee lungo i margini di torace ed emielitre, e il ventre di color ocre. Le antenne, costituite da quattro antennomeri, sono dello stesso colore del dorso, tranne la parte basale del secondo e terzo articolo, più chiara. Il torace è di forma esagonale con omeri sporgenti e ricurvi verso l'alto. Le zampe anteriori e medie hanno quasi le stesse dimensioni, mentre quelle posteriori sono decisamente più lunghe. L'addome è maggiormente sviluppato nella femmina, in cui si osservano nove uriti apparenti, mentre nel maschio è possibile distinguere sette tergiti e sei sterniti. Sono lunghi da 12,0 a 17,0 mm la femmina, da 10,0 a 14,0 mm il maschio (Figura 2a, b).

1.1.2. BIOETOLOGIA

G. acuteangulatus è una specie omodinamica, che in Italia compie generalmente una generazione all'anno e sverna come adulto (Boselli, 1932; Genduso e Mineo, 1974b). In Sicilia, adulti svernanti, caratterizzati dalla posizione delle antenne in avanti, sono stati rinvenuti fra cespugli di *ampelodesma*, *festuca*, graminacee spontanee, terebinto, edera, foglie secche di castagno, *Cistus* spp., erica, e anche su bosso e tasso, spesso insieme ad altri eterotteri (Boselli, 1932; Genduso e Mineo, 1974b). Occasionalmente gli adulti

svernanti, rilevati in numero anche elevato sulle piante ispezionate ma mai aggregati, bensì piuttosto isolati uno dall'altro, sono stati osservati nutrirsi (Boselli, 1932, Genduso e Mineo, 1974b).

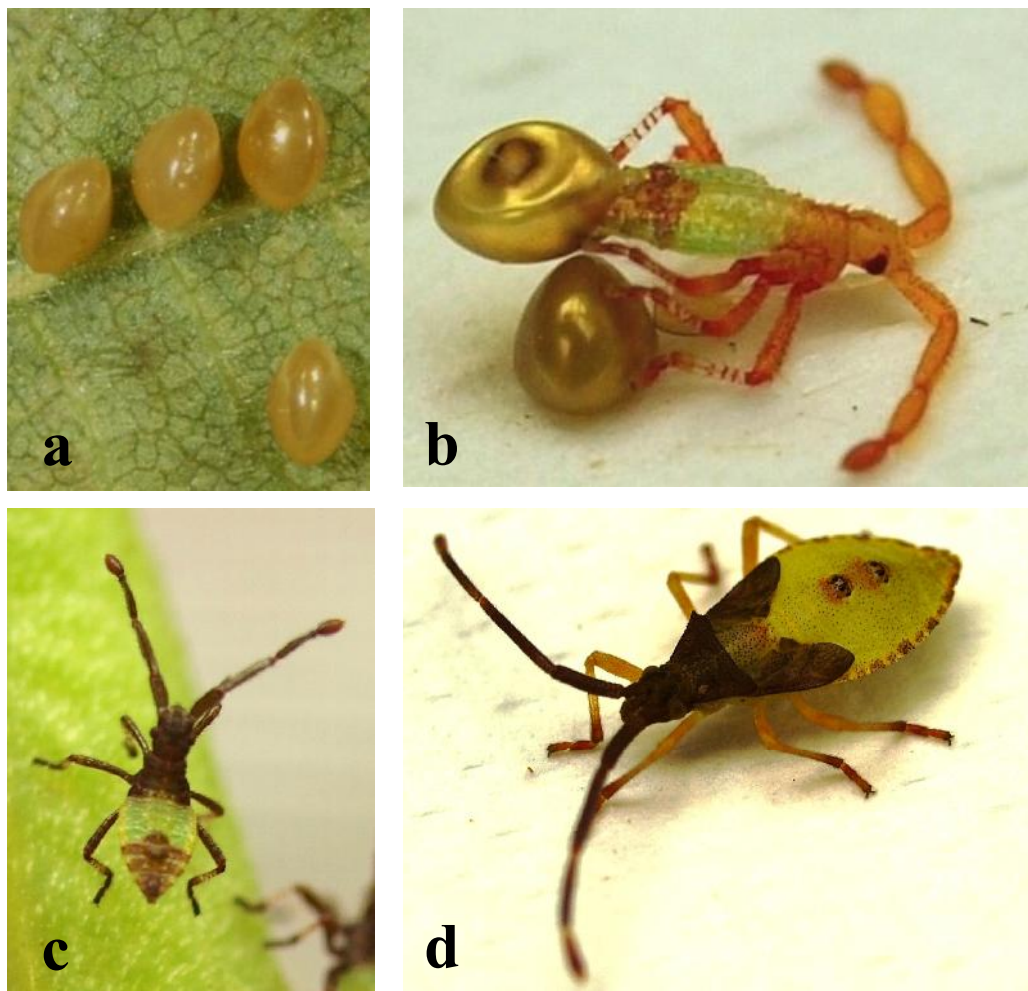


Figura 1. *Gonocerus acuteangulatus*: uova (a); neanide di I età (b, c); ninfa (d).

In primavera *G. acuteangulatus* riprende l'attività quando le temperature giornaliere superano 20°C (Genduso e Mineo, 1974b); gli adulti sono stati rinvenuti su sorbo ed edera (Boselli, 1932), ciliegio e amarena (Genduso e Mineo, 1974b). A partire generalmente dal mese di maggio, quando gli ovuli all'interno dei frutti di nocciolo sono stati fecondati, il fitofago si trasferisce nei corileti; qui, durante il periodo degli accoppiamenti e dell'ovideposizione, gli adulti sono stati ancora osservati isolati (Boselli, 1932). Anche in Piemonte gli adulti compaiono in corileto durante il mese di maggio e, dopo gli accoppiamenti, a partire dal mese di giugno le femmine cominciano a ovideporre, e proseguono fino alla prima

decade di agosto (Tavella *et al.*, 2001a). Ogni femmina depone mediamente 30-40 uova, collocandole sia su foglie sulla pagina superiore o inferiore, che su brattee e infiorescenze.

La durata del ciclo, da adulto a uovo, è molto variabile, anche a partire da uova deposte nello stesso giorno, e può durare da 45 a 105 giorni (Genduso e Mineo, 1974b). In relazione all'andamento climatico, le prime neanidi compaiono fra la seconda e la terza decade di giugno e possono completare l'intero sviluppo post-embrionale a carico del nocciolo (Tavella *et al.*, 2001a). La neanide di prima età può compiere la prima muta anche senza nutrirsi (Genduso e Mineo, 1974b). Verso fine luglio-inizio agosto avviene lo sfarfallamento dei primi adulti che permangono nei corileti fino alla stagione autunnale (Tavella *et al.*, 2001a). Gli adulti vivono in media 11 mesi (Genduso e Mineo, 1974b). I primi adulti sfarfallati nel periodo estivo sono stati osservati accoppiarsi e ovideporre, ma gli stadi giovanili della seconda generazione non sono mai sopravvissuti all'inverno (Genduso e Mineo, 1974b).

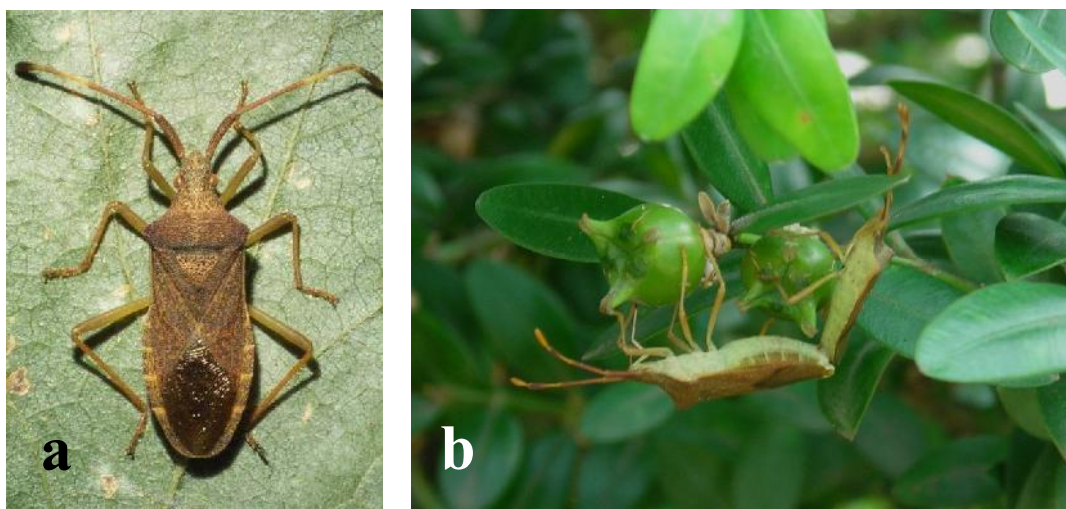


Figura 2. *Gonocerus acuteangulatus*: maschio (a); femmina (sx) e maschio (dx) in accoppiamento su *Buxus sempervirens* (b).

1.1.3. DANNI

G. acuteangulatus causa su nocciolo due tipi di danno, in relazione al periodo di attacco: le punture di nutrizione effettuate sui frutti in maggio e giugno, poco dopo la fecondazione degli ovuli all'interno, determinano l'aborto "traumatico", cioè l'arresto di sviluppo dei cotiledoni e la morte del seme quando

questo ha raggiunto la lunghezza di 2-3 mm, mentre le punture effettuate a luglio e agosto provocano alterazioni ai semi in fase di sviluppo più avanzata (Figura 3) (Boselli, 1932; Tavella *et al.*, 2001a, 2003).



Figura 3. Alterazioni su nocciole causate dalle punture di nutrizione di *Gonocerus acuteangulatus*.

Nei decenni passati, il danno principale causato da *G. acuteangulatus* su nocciolo in Sicilia era considerato l’aborto traumatico: la perdita di produzione, consistente in frutti vuoti, veniva considerata economicamente rilevante e raggiungeva non meno del 10% dei frutti (Boselli, 1932). Tuttavia la cascola è un fenomeno influenzato anche da altri fattori, soprattutto fisiologici, oltre che da attacchi fungini, che concorrono alla sua determinazione (Tavella *et al.*, 2001b, 2003). Le alterazioni a carico del seme, note come “cimiciato”, cioè la subnecrosi dei tessuti cotiledonari interessati, sempre periferici, che si presentano brunastri o giallognoli o bianchi, senza segni di riconoscimento all’esterno del frutto, non avevano invece mai causato deprezzamenti del prodotto. La diminuzione dell’olio contenuto nel seme e l’aumento della sua acidità risultavano infatti un fenomeno circoscritto alla zona interessata dall’alterazione, mentre il resto del seme manteneva condizioni normali, causando effetti trascurabili sul valore alimentare ed igienico (Boselli, 1932). Attualmente invece la presenza di semi cimiciati riveste un’importanza economica rilevante ed è causa di deprezzamento del prodotto, in quanto le nocciole colpite possono conferire sapore sgradevole

all'intera partita in questo momento in cui l'attenzione dei consumatori nei riguardi di un prodotto sano si è accresciuta (Paparatti, 2006).

1.1.4. DIFESA

Nell'agroecosistema corileto, caratterizzato da una relativa stabilità spazio-temporale (Viggiani, 1994), la maggior parte delle specie che compongono l'artropodofauna non è dannosa ma accidentale o addirittura utile (AliNiaze, 1998). Sono presenti infatti numerosi limitatori naturali dei fitofagi dannosi compreso il coreide. Prima del 1970, erano noti quali parassitoidi oofagi di *G. acuteangulatus* gli imenotteri *Anastatus* sp. (Eupelmidae), *Microphanus* sp. e *Telenomus* sp. (Scelionidae) (Boselli, 1932). Successivamente, sono state rilevate altre specie di imenotteri parassitoidi oofagi: *Anastatus bifasciatus* (Geoffroy) (Eupelmidae); *Gryon muscaeformis* (Nees), *G. rediuviphagus* (Kozlov), *Gryon* sp., *Trissolcus grandis* (Thomson), *T. flavipes* (Thomson) (Scelionidae) (Viggiani e Mineo, 1974). Negli anni '70 del secolo scorso, in Sicilia il tasso di parassitizzazione raggiungeva valori pari a 35-40% (Genduso e Mineo, 1973), mentre in Campania la percentuale di parassitizzazione era superiore a 50% (Viggiani e Mazzone, 1976). Tra le diverse specie di imenotteri il ruolo di limitazione più importante è svolto da *A. bifasciatus* e *G. muscaeformis*, che in Sicilia iniziano la propria attività già a partire dalle prime ovideposizioni del coreide (Genduso e Mineo, 1973). Per quanto concerne *A. bifasciatus*, riconosciuto come il principale limitatore naturale di *G. acuteangulatus* anche in altre aree italiane (Pantaleoni e Tavella, 2006), sono stati osservati casi di iperparassitizzazione ectofaga nei confronti di altri parassitoidi (Genduso, 1974).

La difesa dagli attacchi di questo coreide è però sempre stata affidata all'impiego di trattamenti insetticidi, in quanto l'attività dei limitatori naturali non riesce a contenere in modo soddisfacente le infestazioni e di conseguenza i danni sulla produzione. In seguito alla revisione europea degli agrofarmaci (Direttiva 91/414/CEE, Regolamento CE 1107/2009 e Direttiva Quadro 2009/128/CE), negli ultimi anni è stata revocata l'autorizzazione all'uso di alcuni principi attivi efficaci contro *G. acuteangulatus*. Pertanto gli studi recenti condotti in Italia sono stati rivolti alla ricerca di nuovi principi attivi impiegabili nella difesa del

nocciolo dal coreide (Guidone e Tavella, 2007) e di nuovi e rapidi metodi di diagnosi delle alterazioni sul prodotto (Vaccino *et al.*, 2008).

1.2. SEMIOCHIMICI

Sono definiti semiochimici i composti coinvolti nelle interazioni fra organismi viventi, in grado di indurre modificazioni soprattutto di carattere etologico, talvolta anche fisiologico o perfino anatomico (Masutti e Zangheri, 2001). Vengono generalmente classificati in feromoni, che agiscono a livello intraspecifico e favoriscono la comunicazione all'interno della specie, e allelochimici, che con effetto interspecifico sono in grado di mediare la comunicazione tra specie e regni diversi.

I feromoni vengono divisi in base alla risposta comportamentale che inducono; in particolare sono conosciuti feromoni sessuali, di aggregazione, di dispersione, di aggressione o di allarme, di traccia. Ogni miscela si contraddistingue per composizione e concentrazione delle sostanze che la compongono ed è strettamente specie-specifica (Birch e Haynes, 1984).

Gli allelochimici sono divisi in allomoni, cairomoni e sinomoni. Gli allomoni sono segnali utili solo all'organismo che li emette; fanno parte di questo gruppo tutte quelle sostanze chimiche di tipo difensivo, più o meno volatili, che sollecitano l'allontanamento di altre specie a vantaggio di quella emittente. I cairomoni sono segnali favorevoli solo all'organismo che li riceve (Dicke e Sabelis, 1988); sono compresi in questo gruppo i composti volatili emessi dalle piante che richiamano i fitofagi, la melata degli afidi che attira predatori quali le crisope, gli odori presenti sulle uova che attraggono i parassitoidi oofagi (Celli e Maini, 1988). I sinomoni sono segnali favorevoli sia all'organismo emittente che al ricevente (Dicke e Sabelis, 1988). Rientrano in questo gruppo l'odore emesso dai fiori che attira insetti pronubi (Celli e Maini, 1988) e le sostanze volatili rilasciate da piante infestate che richiamano i nemici naturali dei fitofagi (Dicke e Loon, 2000; Elliot *et al.*, 2000; Duradeva *et al.*, 2006; Dicke, 2009).

1.2.1. FEROMONI DEGLI ETEROTTERI

All'interno degli eterotteri in passato è stato studiato soprattutto il contenuto delle ghiandole odorifere sia negli stadi giovanili, che negli adulti, situate

rispettivamente in posizione addominale-dorsale e in posizione metatoracico-ventrale. La maggior parte dei semiochimici prodotti da queste ghiandole è costituita da composti di difesa (principalmente esteri e aldeidi) contro gli attacchi dei predatori, con attività irritante o tossica per questi ultimi (Aldrich, 1988; Millar, 2005; Pavis, 1987; McBrien e Millar, 1999), e quindi inscrivibili nei gruppi dei feromoni di allarme o di dispersione e degli allomoni.

L'identificazione dei feromoni attrattivi risulta più difficile innanzitutto per la loro produzione in quantità minore rispetto ai composti di difesa, che ne mascherano la presenza (McBrien e Millar, 1999; Millar, 2005); in alcuni casi infatti questi ultimi fungono da feromoni di aggregazione quando rilasciati in minor quantità (Millar *et al.*, 1997). Inoltre vi è grande variabilità nella produzione dei feromoni attrattivi all'interno degli eterotteri: non sempre è lo stesso sesso a produrre i feromoni attrattivi, anche in specie appartenenti alla stessa famiglia. Ad esempio, nella famiglia Alydidae, i maschi di *Riptortus clavatus* (Thunberg) sono attrattivi per gli adulti di entrambi i sessi e per gli stadi giovanili (Leal *et al.*, 1995), mentre entrambi i sessi di *Leptocorisa chinensis* (Dallas) producono feromoni attrattivi per i maschi (Leal *et al.*, 1996). Anche il ruolo dei feromoni non è costante all'interno del gruppo, in particolare all'interno della famiglia Coreidae i maschi di *Leptoglossus clypealis* Heidemann producono feromoni sessuali (Wang e Millar, 2000), mentre i maschi di *L. occidentalis* Heidemann producono feromoni di aggregazione attrattivi poco prima della diapausa invernale (Blatt e Borden, 1996).

Sebbene siano noti molti composti prodotti da adulti e stadi giovanili anche di altri coreidi, ad esempio *Acanthocerus galeator* (F.) (Aldrich e Yonke, 1975), *Amblypelta lutescens lutescens* Distant (Aldrich *et al.*, 1993; Khrimian *et al.*, 2012), *A. nitida* Stål (Aldrich *et al.*, 1993), *Archimerus alternatus* (Say) (Aldrich e Yonke, 1975), *Leptoglossus australis* (F.) (Yasuda, 1998), *L. clypealis*, *L. oppositus* (Say) (Aldrich e Yonke, 1975), *L. phyllopus* (L.) (Aldrich *et al.*, 1976; Aldrich *et al.*, 1993), *L. zonatus* (Dallas) (Panizzi, 2004), *Pachylis laticornis* (F.) (Aldrich *et al.*, 1982), finora la loro effettiva azione è stata scarsamente accertata in biosaggi comportamentali e, anche quando i biosaggi sono stati effettuati, raramente hanno fornito risultati chiari ed esaustivi. Eccezione fanno i feromoni di allarme, di più facile identificazione per la loro produzione in quantità

abbondanti e per la relativa semplicità di esecuzione di biosaggi comportamentali, già applicati per *L. zonatus* (Leal *et al.*, 1994), *L. occidentalis* (Blatt *et al.*, 1998), *Thasus neocalifornicus* Brailovsky and Barrera (Prudic *et al.*, 2008).

1.2.2. ALLELOCHIMICI

Oltre agli allomoni prodotti dagli eterotteri, notevole importanza rivestono anche gli allelochimici emessi dalle piante, in particolare i cairomoni che permettono ai fitofagi di individuare a lunga distanza le piante ospiti (Ruther *et al.*, 2002; Bruce e Pickett, 2011). Sebbene per altri gruppi di fitofagi questo argomento sia oggetto di numerosi studi non solo riguardo ai cairomoni, ma anche ai sinomoni prodotti dalle piante come richiamo di predatori e parassitoidi in risposta agli attacchi subiti (Dicke e Loon, 2000; Dicke, 2009), per quanto concerne i coreidi e in generale gli eterotteri, poche sono state le ricerche condotte finora.

Indagini in laboratorio sulla risposta di *Coreus marginatus* (L.) (Coreidae) a stimoli visivi, olfattivi e gustativi hanno mostrato come tutti e tre gli stimoli vengano utilizzati nella ricerca dell'alimento (Pekár e Hrušková, 2006). Nei coreidi sono state messe in evidenza chiare preferenze alimentari in relazione alle parti vegetali; alcune specie preferiscono le parti vegetative (pezioli, fogliame), mentre altre attaccano gli organi riproduttivi (Schaefer e Mitchell, 1983). In *Holymenia clavigera* (Herbst) e *Anisoscelis foliacea martinella* (Dallas) è stata riscontrata una preferenza verso i frutti maturi di alcune Passifloraceae (Rodrigues *et al.*, 2008), nei quali sono stati riscontrati composti secondari coinvolti nel fenomeno di resistenza delle piante contro gli attacchi di fitofagi, come i glicosidi cianogenetici (Chassagne e Crouzet, 1998). Ancora, in *Anasa tristis* (De Geer) fenomeni di antibiosi o di antixenosi o una combinazione di entrambi sono stati rilevati su tre cultivar di zucchini, dove gli allelochimici potrebbero aver influito sulla sopravvivenza dei primi stadi neanidali (Vogt e Nechols, 1993). Alcuni volatili emessi da piante di *Vigna* spp. risultano repellenti per il coreide *Clavigralla tomentosicollis* Stål in biosaggi in olfattometro (Koonen *et al.*, 2003), mentre i terpenoidi presenti nella *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake, come il trans-nerolidol, hanno una funzione attrattiva nei confronti di *L. phyllopus* (Aldrich *et al.*, 1993).

1.2.3. IMPIEGO IN AGRICOLTURA

Finora tra i semiochimici conosciuti coinvolti nelle interazioni intra- e inter-specifiche degli eterotteri è stato principalmente ipotizzato l'impiego dei feromoni attrattivi come innesco di trappole per il monitoraggio in pieno campo. Alcune prove preliminari ponendo in trappole di varia fattura i feromoni naturali (presenza di adulti) e/o gli analoghi di sintesi sono state condotte con i seguenti eterotteri: gli alididi *Neomegalotomus parvus* (Westwood) in Brasile (Ventura e Panizzi, 2004) e *L. chinensis* in Giappone (Fukatsu *et al.*, 2012); i pentatomidi *Euschistus heros* (F.) in Brasile (Borges *et al.*, 1998), *E. conspersus* (Uhler) in California (Cullen e Zalom, 2005, 2006) e Washington (Krupke *et al.*, 2001), *Euschistus* spp. in West Virginia (Leskey e Hogmire, 2005; Hogmire e Leskey, 2006) e in Georgia (Cottrell, 2001), *Chlorochroa uhleri* (Stål) e *C. sayi* (Stål) in California (Millar *et al.*, 2010), *Halyomorpha halys* (Stål) in Maryland (Aldrich *et al.*, 2009), *Plautia crossota stali* Scott in Giappone (Adachi *et al.*, 2007).

I risultati sono stati tuttavia generalmente insoddisfacenti, poiché all'interno delle trappole sono stati spesso catturati numeri troppo esigui di insetti. Questi risultati potrebbero essere dovuti al fatto che, come già scritto, spesso l'identificazione dei volatili emessi dagli eterotteri non è stata affiancata da biosaggi comportamentali che ne abbiamo provato chiaramente l'effetto, e quindi a un impiego non corretto delle molecole (McBrien e Millar, 1999; Millar, 2005). Altre cause potrebbero essere la diversa sensibilità delle specie ai feromoni attrattivi, la polifagia e l'elevata mobilità delle specie nell'ambiente, le dosi di feromone non corrette (Millar, 2005) e, non ultime, la forma e la fattura delle trappole, non adatte alla cattura degli eterotteri. In particolare, non paiono idonee per i pentatomidi, che si avvicinano alla sorgente dei feromoni, ma a corta distanza comunicano attraverso la produzione di vibrazioni del substrato (Millar *et al.*, 2002).

Sono state avanzate tuttavia altre ipotesi sull'impiego dei semiochimici percepiti dagli eterotteri per la difesa delle colture: risultati interessanti sono stati ottenuti con l'impiego di sostanze repellenti prodotte da *Vigna* spp. applicate su semi artificiali che hanno inibito la nutrizione del coreide *C. tomentosicollis* (Koonen *et al.*, 2003).

Per quanto riguarda gli insetti fitofagi in generale, nuove strategie, che necessitano ancora di ulteriori studi di approfondimento e che potrebbero forse in futuro essere applicate anche agli eterotteri, sono la tecnica del *push and pull*, che prevede di rendere non attrattive le colture e richiamare i fitofagi su sorgenti attrattive (Cook *et al.*, 2007), e l'uso dei "paraferomoni", sostanze chimicamente simili ai feromoni che inducono modificazioni nel comportamento degli insetti riceventi, non comuni per tutte le specie e di cui non sono completamente noti gli effetti (Renou e Guerrero, 2000).

1.3. OBIETTIVI GENERALI

Il recente aumento delle popolazioni di *G. acuteangulatus* nei noccioli del Piemonte, e di conseguenza del danno rilevato sui semi alla raccolta, ha ridestato l'interesse verso lo studio di questo fitofago nell'ottica di impostare un efficace programma di difesa ecocompatibile. In particolare, la bioetologia dell'eterottero non è stata sinora indagata in modo approfondito, in quanto negli studi precedenti è stata investigata principalmente in relazione al nocciolo, e non alle altre piante ospiti note (Moulet, 1995; Genduso e Mineo, 1974b), dalle quali le popolazioni potrebbero migrare sul nocciolo e viceversa. L'attenzione andrebbe posta quindi allo studio delle piante ospiti alternative al nocciolo e ai semiochimici coinvolti nelle comunicazioni inter- e intra-specifiche di *G. acuteangulatus*.

Sulla base di quanto riportato in letteratura e delle esperienze maturate in campo negli anni, gli obiettivi della presente ricerca triennale sono stati:

1. approfondire le conoscenze sulla bioetologia di *G. acuteangulatus*, in particolare sul comportamento alimentare e sugli effetti della sua attività trofica sulle nocciole;
2. indagare la produzione di feromoni specifici mediante captazione dei volatili emessi dagli adulti, e valutarne l'attività in biosaggi fisiologici e comportamentali in condizioni di laboratorio, semi-campo e campo;
3. rilevare la presenza di piante ospiti, alternative al nocciolo, sul territorio piemontese e accertarne l'attrattività in relazione allo stadio fenologico.

CAPITOLO II.

2. STUDIO DEL COMPORTAMENTO ALIMENTARE SU NOCCIOLO

2.1. PREMESSA

Sebbene *G. acuteangulatus* sia responsabile di gravi danni in tutte le principali regioni corilicole italiane, Campania, Lazio, Piemonte e Sicilia (Mazzone e Ragozzino, 2006; Viggiani e Mazzone, 1976; Scortichini, 2006; Siscaro *et al.*, 2006; Tavella e Giannetti, 2006; Moraglio *et al.*, 2009), non è mai stata evidenziata una relazione tra la numerosità degli individui su nocciolo, solitamente esigua, e l'entità del danno causato (Boselli, 1932; Paparatti, 2006; Guidone, 2007). Inoltre l'incidenza e l'effetto delle punture di nutrizione del coreide sulle caratteristiche organolettiche delle nocciole sono stati finora poco indagati (Boselli, 1932; Paparatti, 2006).

In seguito all'aumento del danno a carico dei semi riscontrato negli ultimi anni, probabilmente dovuto alla revoca dei principi attivi utilizzati nella difesa del nocciolo come conseguenza alla revisione europea degli agrofarmaci, è apparso importante migliorare le conoscenze non solo sulla bio-etologia dell'insetto, ma anche e soprattutto sull'incidenza dei suoi attacchi sulla qualità del prodotto per valutarne il rilievo economico, apparentemente sopravvalutato dalle attuali regole di mercato (Boselli, 1932; Paparatti, 2006). Approfondimenti sugli effetti dell'attività trofica del coreide sulle nocciole si sono quindi resi necessari.

Allo scopo di verificare gli effetti delle punture di nutrizione a carico dei semi, adulti di *G. acuteangulatus* sono stati isolati su frutti in via di maturazione all'interno di maniche di rete, collocati su branche di nocciolo già alla comparsa delle prime infruttescenze. In questo modo sono state prodotte nocciole sicuramente attaccate dall'insetto da sottoporre ad analisi visive per il rilevamento del danno e ad analisi sensoriali per valutarle anche dal punto di vista organolettico. Le analisi sono state condotte anche su nocciole raccolte nell'anno precedente per verificare se e in quale modo le alterazioni causate dall'attività trofica del coreide interferiscano con la conservazione del prodotto. Le

valutazioni sensoriali sono state effettuate con l'ausilio di un gruppo di assaggiatori utilizzando dei test di tipo discriminante-qualitativo.

2.2. MATERIALI E METODI

2.2.1. ALLEVAMENTO DI *GONOCERUS ACUTEANGULATUS*

Per tutte le prove condotte nei tre anni di ricerca sono stati impiegati adulti di *G. acuteangulatus* provenienti sia da raccolte massali in campo sia dagli allevamenti allestiti presso i laboratori del DIVAPRA Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente dell'Università degli Studi di Torino. Prima del loro impiego, anche gli individui (adulti e stadi giovanili) raccolti in campo erano mantenuti per un periodo variabile in allevamento.

Per avviare le prove, nel mese di gennaio 2010 adulti svernanti di *G. acuteangulatus* sono stati prelevati dagli allevamenti massali allestiti su piante di bosso all'interno di gabbie di plexiglas e rete ($40 \times 40 \times 50$ cm), approvvigionati periodicamente con nocciole sgusciate, e mantenuti in condizioni ambientali nell'arboreto del DIVAPRA a Grugliasco (TO) (Figura 4a, b). In particolare, nove coppie (maschio e femmina) di adulti svernanti sono state trasferite in tre gabbie di plexiglas e rete più piccole ($20 \times 20 \times 30$ cm) (tre coppie gabbia⁻¹), sempre su piante di bosso e con nocciole sgusciate, poste in cella climatizzata [temperatura (T) $5 \pm 1^\circ\text{C}$, umidità relativa (UR) $75 \pm 5\%$, luce:buio 16:8]. Con cadenza settimanale le gabbie sono state trasferite in celle a temperatura di volta in volta crescente: 10°C , 15°C , 20°C e infine 24°C , allo scopo di interrompere anticipatamente la diapausa degli adulti. Le gabbie sono state successivamente mantenute a 24°C , poiché in precedenti studi era risultata la temperatura più idonea all'allevamento di *G. acuteangulatus* (Burgio *et al.*, 1982). Periodicamente è stata controllata l'attività degli adulti all'interno delle gabbie, e le uova e le neanidi sono state conteggiate e trasferite all'interno di altre gabbie, allestite come sopra descritto, o all'interno di capsule di Petri in vetro (\varnothing 135 mm), approvvigionate con baccelli di fagiolino e nocciole sgusciate.

Dall'inizio delle catture in campo, e per tutto il periodo primavera-estate, nel triennio gli individui raccolti sono stati posti in allevamento in gabbie di rete più grandi ($93 \times 47,5 \times 47,5$ cm) (MegaView, Taichung, Taiwan), sempre con piante di bosso e nocciole sgusciate, mantenute in parte in arboreto in condizioni

ambientali e in parte in camere climatizzate in condizioni controllate ($T 24 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $65 \pm 5\%$, luce:buio 16:8), per cercare di ottenere popolazioni permanentemente in attività (Figura 4c, d, f, e).



Figura 4. *Gonocerus acuteangulatus*: allevamenti con adulti svernanti su bosso in condizioni ambientali (a, b); allevamenti massali in condizioni di laboratorio (c, d, e, f).

2.2.2. PRODUZIONE DI NOCCIOLE SANE E CIMICATE

La prova è stata condotta nel 2010 nel nocciolo a conduzione biologica presso la Scuola Teorico Pratica Malva-Arnaldi di Bibiana (TO) (44°47'51.22"N, 7°17'0.23"E, 406 m s.l.m.). A fine maggio, all'inizio dello sviluppo dei frutti, sono stati montati 250 isolatori su rami portanti almeno quattro infruttescenze; ciascun isolatore era costituito da due cilindri: quello esterno realizzato in rete antiafidi 16 × 10 [Artes Politecnica, Schio (VI)], lungo 730 mm e con diametro di 170 mm; quello interno in rete di plastica, lungo 310 mm e con diametro di 165 mm con funzione di sostegno. Ogni isolatore, numerato in ordine progressivo, è stato chiuso alle due estremità e poi legato con filo animato al ramo soprastante, per impedire che il peso piegasse o spezzasse lo stesso ramo (Figura 5).

A metà luglio, quando i semi avevano raggiunto un buon livello di sviluppo e le punture di nutrizione potevano quindi provocare i danni maggiori (Tavella *et al.*, 2001a, 2003), 104 maschi e 69 femmine di *G. acuteangulatus* sono stati introdotti singolarmente all'interno di 175 isolatori e mantenuti fino alla raccolta. Nei restanti 75 isolatori non sono stati introdotti insetti durante tutta la stagione al fine di ottenere semi sicuramente sani da utilizzare nelle successive analisi sensoriali. A inizio settembre, gli isolatori sono stati smontati e trasferiti presso i laboratori del DIVAPRA, dove le cimici sono state estratte e poste negli allevamenti, mentre le nocciole sono state divise per isolatore e conservate in sacchetti di carta.

Nel mese di ottobre le nocciole sono state conteggiate, sgusciate e, sempre separate per isolatore, tostate in stufa a 160°C per 20 min per le analisi successive. Dopo tostatura, le nocciole provenienti dagli isolatori in cui erano state introdotte le cimici sono state ulteriormente esaminate per verificare la presenza dei sintomi causati dalle punture di nutrizione. I semi sono stati quindi conservati in sacchetti sottovuoto in frigorifero a temperatura di 4°C, suddivisi in tre gruppi:

- semi sani, sicuramente non attaccati da cimici (nocciole prelevate nei 75 isolatori senza insetti, testimone);
- semi cimiciati, con evidenti sintomi causati dalle punture di nutrizione delle cimici (nocciole prelevate nei 175 isolatori con cimici);

- semi senza sintomi, ossia senza alcun danno visibile riconducibile all'attività trofica delle cimici (nocciole prelevate nei 175 isolatori con cimici).

Le percentuali di semi danneggiati dai maschi e dalle femmine di *G. acuteangulatus* all'interno degli isolatori sono state prima trasformate in arcoseno della radice quadrata, poiché il numero di nocciole a disposizione non era costante, e analizzate, dopo averne accertato l'omogeneità (test di Levene) e la normalità (test di Shapiro-Wilk), con analisi della varianza (ANOVA) a una via utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).



Figura 5. Isolatore in rete montato su una branca di nocciolo con infruttescenze nel corileto di Bibiana (TO) nel 2010.

2.2.3. ANALISI SENSORIALI

Le analisi sensoriali sono state svolte presso i laboratori del DIVAPRA Microbiologia agraria e Tecnologie alimentari dell'Università degli Studi di Torino, con diverse modalità sui seguenti campioni:

- nocciole provenienti dagli isolatori collocati nel 2010 (capitolo 2.2.2);
- nocciole provenienti da isolatori collocati nel 2009, dopo conservazione per 8 mesi in cella frigorifera ($T 4\pm 1^{\circ}\text{C}$, $UR 55\pm 5\%$);

- nocciole fornite dall'Organizzazione di Produttori ASCOPIEMONTE, dopo conservazione per 8 e 12 mesi in cella frigorifera ($T 4\pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR } 55\pm 5\%$) e per 12 mesi in cella ad atmosfera controllata (1% ossigeno, 99% azoto).

Le nocciole provenienti dagli isolatori collocati nel 2010, separate nelle tre categorie sopracitate (sane, cimiciate, senza sintomi), tostate dopo la raccolta, sono state utilizzate per eseguire un confronto mediante un test di appaiamento: gli assaggiatori erano posti di fronte a due serie di tre bicchieri, ognuno contenente nocciole di una delle tre categorie, in modo che ciascuna categoria fosse presente in un bicchiere di entrambe le serie; i bicchieri contenenti nocciole della stessa categoria dovevano essere appaiati.

Le nocciole, ottenute in isolatori come sopra descritto nel 2009, sezionate in quattro parti per rilevare sintomi di cimiciato, separate nelle stesse categorie del 2010 (sane, cimiciate, senza sintomi), conservate in cella frigorifera per 8 mesi sono state utilizzate per: I) un test di appaiamento, II) un'analisi quantitativa-descrittiva, III) un'analisi dei parametri di gradimento. Gli assaggiatori hanno espresso un giudizio di valutazione dei parametri sensoriali per le tre categorie di nocciole compreso tra 0 (assente) e 5 (molto intenso) per l'analisi quantitativa-descrittiva e compreso tra 0 (non gradito) e 5 (molto gradito) per l'analisi dei parametri di gradimento.

Le nocciole fornite dall'ASCOPIEMONTE, separate in sane e cimiciate, sono state analizzate mediante duo-trio test: agli assaggiatori venivano dati un bicchiere "testimone", contenente nocciole appartenenti a una delle due categorie, e due bicchieri contenenti uno nocciole sane e uno nocciole cimiciate. Gli assaggiatori dovevano abbinare il bicchiere testimone a quello contenente nocciole della stessa categoria. Sono state confrontate nocciole sane e cimiciate dopo un periodo di conservazione di 8 e 12 mesi in cella frigorifera e di 12 mesi in cella ad atmosfera controllata. Le nocciole conservate 12 mesi sono state valutate prima e dopo tostatura mediante duo-trio test. Sono state confrontate anche le nocciole cimiciate conservate 12 mesi con i due metodi.

Le valutazioni sensoriali sono state effettuate ciascuna da un gruppo di almeno 17 assaggiatori. I risultati del test di appaiamento e del duo-trio test sono stati confrontati con test del χ^2 utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS,

Chicago, IL, USA). L'ipotesi nulla era che ciascuna tipologia di nocciole venisse appaiata correttamente dal 50% degli assaggiatori.

2.3. RISULTATI

2.3.1. ALLEVAMENTO DI *GONOCERUS ACUTEANGULATUS*

Gli adulti svernanti spostati dall'arboreto in cella climatica con temperature crescenti da 5°C a 24°C hanno cominciato a nutrirsi attivamente sulle piante di bosso e sulle nocciole all'inizio del mese di febbraio, circa una settimana dopo il trasferimento a 24°C. I primi accoppiamenti sono stati osservati alla fine del mese di febbraio, dopo circa tre settimane dal risveglio dalla diapausa. Le prime uova sono state deposte circa tre settimane dopo l'inizio degli accoppiamenti, a metà del mese di marzo, e le prime neanidi sono emerse la settimana successiva. I primi adulti sono sfarfallati circa sei settimane dopo l'inizio dell'ovideposizione. Il rilevamento delle ovideposizioni è proseguito per tre mesi, fino a metà del mese di giugno, e in questo periodo (metà marzo-metà giugno) ciascuna femmina ha deposto in media quattro uova alla settimana. Dopo la metà del mese di giugno, quando circa metà degli adulti erano morti, le osservazioni sono state interrotte, anche a causa della bassissima resa ottenuta dall'allevamento: la mortalità, soprattutto delle prime età neanidali, è stata elevatissima. Nelle condizioni di allevamento, infatti, sono stati ottenuti adulti solo dall'11% delle uova deposte.

Anche per gli individui provenienti dalle raccolte massali in campo la mortalità in cattività è stata elevata; durante i tre anni di ricerca non è mai stato possibile mantenere in allevamento più di un centinaio di adulti contemporaneamente e, data la scarsa resa nonostante l'alto tasso di ovideposizione, gli allevamenti hanno sempre avuto bisogno di essere rinnovati con individui provenienti dal campo.

2.3.2. PRODUZIONE DI NOCCIOLE SANE E CIMICATE

All'interno degli isolatori dopo la rimozione e il trasferimento in laboratorio 103 maschi e 65 femmine sono stati rinvenuti morti. Di questi, 53 maschi e 26 femmine non avevano causato alterazioni visibili ai semi. Tuttavia, anche tra gli adulti ancora vivi (un maschio e quattro femmine), una femmina non aveva danneggiato alcuno dei semi disponibili all'interno dell'isolatore in cui era stata

confinata per 50 giorni circa. Considerando soltanto gli adulti che hanno causato alterazioni ad almeno un seme, e confrontando le percentuali di cimiciato provocate dagli adulti ancora vivi al termine della prova, seppur molto pochi, con quelle determinate dagli adulti rinvenuti morti, in molti casi le percentuali di danno erano superiori negli isolatori con gli adulti morti; pertanto i dati sono stati elaborati congiuntamente. Una sola femmina (morta) aveva causato alterazioni a tutte le nocciole disponibili all'interno dell'isolatore, tutti gli altri adulti ne avevano danneggiato soltanto una parte.

In media gli adulti hanno causato alterazioni al $26,41 \pm 2,23\%$ di nocciole disponibili. Non sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra le percentuali di semi danneggiati dai maschi e dalle femmine, rispettivamente pari a $27,78 \pm 2,88\%$ e a $24,75 \pm 3,51\%$ (ANOVA: gdl = 1, 91; $F = 0,401$; $P = 0,528$; $n = 93$). Tuttavia il numero di nocciole presenti all'interno dell'isolatore e il numero di nocciole danneggiate sono risultati positivamente correlati per i maschi (Pearson: coefficiente di correlazione = $0,301$; $n = 51$), ma non per le femmine (Pearson: coefficiente di correlazione = $0,013$; $n = 42$).

2.3.3. ANALISI SENSORIALI

Al test di appaiamento con le nocciole prodotte all'interno degli isolatori nel 2010, tostate dopo la raccolta e separate in sane, cimiciate e senza sintomi, gli assaggiatori hanno differenziato in maniera statisticamente significativa i campioni sano e cimiciato ($\chi^2 = 12,24$; $P = 0,008$).

Al test di appaiamento con le nocciole prodotte all'interno di isolatori nel 2009, sezionate e separate in sane, cimiciate, senza sintomi, conservate in cella frigorifera per 8 mesi, gli assaggiatori non hanno differenziato in maniera significativa il campione sano da quello cimiciato ($\chi^2 = 1,61$; $P = 0,225$). Tuttavia l'analisi quantitativo-descrittiva ha evidenziato marcate differenze nei profili dei campioni cimiciati, senza sintomi e sani (Figura 6). Questi ultimi spiccavano per più elevate dolcezza e intensità del *flavor* rispetto ai campioni cimiciati che si contraddistinguevano per una maggior intensità dell'odore, con sentori di vegetale, e soprattutto per un'elevata intensità del rancido, caratteristica certamente negativa. Dall'analisi dei parametri di gradimento e dal giudizio complessivo, si evince che le nocciole sane sono state decisamente preferite

rispetto alle nocciole cimiciate, in particolare per i parametri aroma e sapore. Alle nocciole senza sintomi è stato invece attribuito un giudizio intermedio (Figura 7).

Al duo-trio test con le nocciole fornite da ASCOPIEMONTE nel 2009, non sono state evidenziate differenze statisticamente significative fra le nocciole sane e le nocciole cimiciate assaggiate crude dopo 8 mesi di conservazione in cella frigorifera (Tabella 1). Gli assaggiatori sono invece stati in grado di riconoscere in maniera totale le nocciole cimiciate da quelle sane dopo 12 mesi di conservazione in cella sia frigorifera che ad atmosfera controllata, sul prodotto sia crudo che tostato (Tabella 1). Anche nel confronto fra le nocciole cimiciate conservate per 12 mesi con le due tecniche sono emerse differenze statisticamente significative.

Tabella 1. Duo-trio test eseguiti sulle nocciole sane e cimiciate fornite da ASCOPIEMONTE nel 2009 e conservate in cella frigorifera (CF) e in cella ad atmosfera controllata (AC), utilizzate tal quali o tostate dopo l'estrazione dalla cella (test χ^2 , $P < 0,05$).

Periodo in cella	test	risultato			
		nocciole crude		nocciole tostate	
		χ^2	P	χ^2	P
8 mesi	cimiciate CF vs sane CF	0,55	0,47	-	
12 mesi	cimiciate CF vs sane CF	ricon. totale		ricon. totale	
	cimiciate AC vs sane AC	ricon. totale		ricon. totale	
	cimiciate CF vs cimiciate AC	6,62	0,03	6,62	0,03

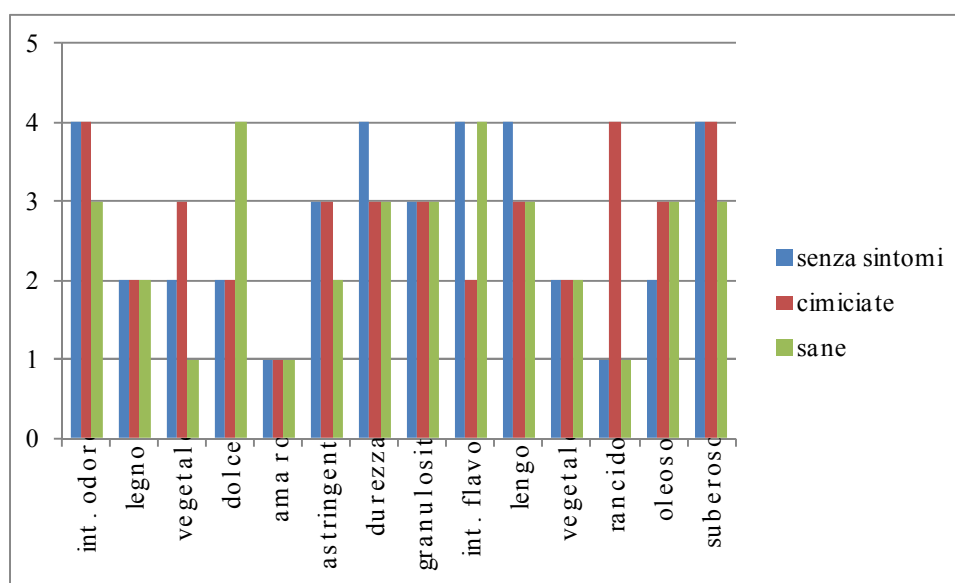


Figura 6. Valori medi calcolati per ciascuno dei parametri sensoriali per i campioni di nocciole, provenienti da isolatori collocati nel 2009 e conservati per 8 mesi in cella frigorifera. La scala di valutazione è compresa fra 0 (assente) e 5 (molto intenso).

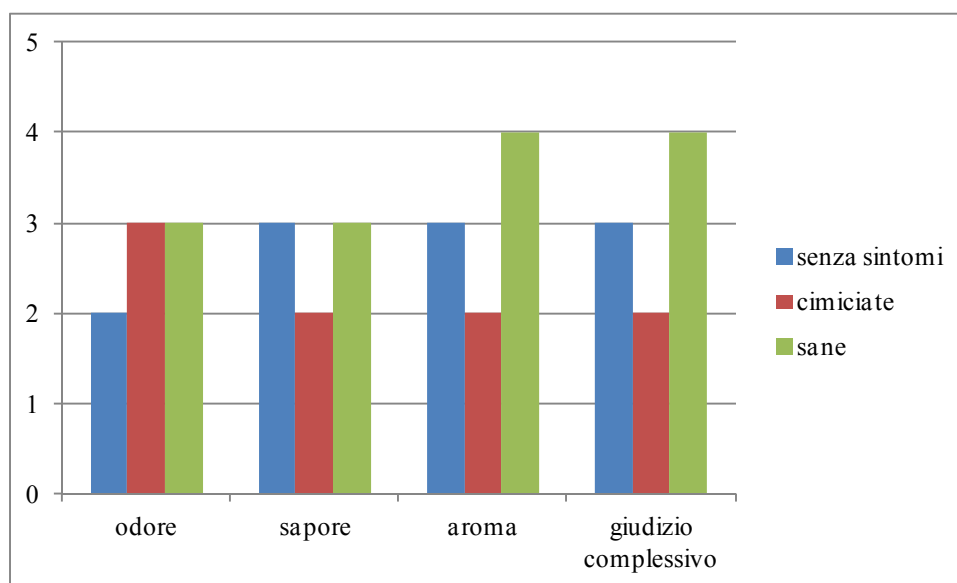


Figura 7. Confronto dei valori medi calcolati per ciascuno dei parametri sensoriali per i campioni di nocciole, provenienti da isolatori collocati nel 2009 e conservati per 8 mesi in cella frigorifera. La scala di valutazione è compresa fra 0 (non gradito) e 5 (molto gradito).

2.4. DISCUSSIONE

Nonostante siano riportati in letteratura ottimi risultati per l'allevamento permanente di *G. acuteangulatus* in laboratorio (Genduso e Mineo, 1972, 1974a; Burgio *et al.*, 1982), nei tre anni di ricerca si è sempre verificata un'elevata mortalità di tutti gli stadi, probabilmente dovuta in cattività a una condizione di maggiore stress che ha reso gli insetti più suscettibili ad agenti entomopatogeni, oltre che ai già noti fenomeni di cannibalismo (Moulet, 1995). Per questo ogni anno è stato necessario rinnovare gli allevamenti con individui catturati in campo durante la stagione primaverile-estiva, che sono anche stati impiegati nella maggior parte delle prove. Tuttavia dalle conoscenze attuali sulla biologia del coreide (Genduso e Mineo, 1974b) si può ipotizzare che gli adulti raccolti in campo nel periodo primaverile e introdotti negli isolatori a luglio appartenessero tutti alla generazione svernante.

Nelle prove condotte nel corileto a Bibiana, è stata confermata l'assenza di correlazione tra il numero di individui presenti su nocciolo e l'entità del danno alle nocciole, come già osservato in passato (Boselli, 1932; Paparatti, 2006, Guidone, 2007). Molti adulti non hanno infatti causato danni ad alcuno dei semi a disposizione, mostrando una variabilità individuale molto elevata nel

comportamento alimentare su nocciolo. La presenza di adulti che non hanno causato alterazioni evidenti potrebbe essere dovuta al fatto che non si nutrono necessariamente per tutta la durata della vita a spese dei semi, o che, nonostante effettuino punture di nutrizione a carico dei semi, non siano in grado di determinare un danno visibile, per caratteristiche legate alla saliva o per assenza di eventuali altri agenti che possono intervenire nelle alterazioni dei semi. Ulteriori indagini sulle abitudini alimentari del coreide, oltre che su eventuali altri agenti che concorrono a causare il danno, saranno necessari.

Per quanto concerne le caratteristiche organolettiche delle nocciole danneggiate da *G. acuteangulatus*, le valutazioni sensoriali hanno sicuramente mostrato come gli effetti delle punture di nutrizione sul prodotto crudo siano maggiormente evidenti con l'aumentare del periodo di conservazione. Dopo 8 mesi dalla raccolta infatti le nocciole sane non sono state significativamente separate da quelle cimiciate, seppure le analisi descrittive abbiano già evidenziato marcate differenze. Al contrario, dopo 12 mesi dalla raccolta le nocciole cimiciate e quelle sane sono state significativamente distinte dagli assaggiatori. Anche la tostatura ha esaltato le alterazioni causate dall'attività trofica del coreide; le nocciole cimiciate sono state infatti statisticamente distinte dalle sane subito dopo la raccolta. In questo studio inoltre non è stato separato il cimiciato scuro (semi con aree superficiali più o meno estese di colore bruno-nerastro) da quello bianco (semi con aree superficiali di consistenza anomala, farinosa, di colore bianco, di solito non estese), poiché solitamente non vengono separati al momento della commercializzazione. Tuttavia, in uno studio recente soltanto il cimiciato scuro, rappresentato da una percentuale molto bassa, è risultato di sapore sgradevole (Paparatti, 2006). Pertanto potranno essere utili in futuro approfondimenti sulle caratteristiche organolettiche delle nocciole con i due tipi di alterazioni, sul loro effetto sulla conservabilità del prodotto e su tempi e temperature di tostatura che possano mitigare le differenze a carico del prodotto cimiciato.

CAPITOLO III.

3. STUDIO DEI FEROMONI

3.1. PREMESSA

Considerando che l'agroecosistema nocciolo è caratterizzato da equilibri relativamente stabili per la presenza di numerosi limitatori naturali (Viggiani, 1994; AliNiazee, 1998) e pertanto particolarmente adatto ad una gestione biologica e integrata, e che la revisione europea degli agrofarmaci ha considerevolmente ridotto il numero di principi attivi utilizzabili per la difesa del nocciolo, sarebbe auspicabile lo sviluppo di una tecnica di lotta a basso impatto ambientale contro le cimici. Poiché sono note esperienze di studio sui feromoni di numerosi eterotteri, fra i quali anche coreidi, come *Leptoglossus* spp., *A. galeator*, *Amblypelta* spp., *A. alternatus*, *P. laticornis* e *T. neocalifornicus* (Aldrich e Yonke, 1975; Aldrich *et al.*, 1976, 1982, 1993; Leal *et al.*, 1994; Blatt e Borden, 1996; Blatt *et al.*, 1998; Yasuda, 1998; Wang e Millar, 2000; Panizzi, 2004; Prudic *et al.*, 2008; Khrimian *et al.*, 2012), è stata avanzata l'ipotesi di individuare feromoni di *G. acuteangulatus* impiegabili in una strategia di difesa per la protezione del corileto. A tal fine sono stati saggiati diversi metodi di estrazione e analisi delle sostanze volatili prodotte dagli adulti del coreide. Le sostanze ottenute sono state poi valutate in biosaggi fisiologici e comportamentali in condizioni di laboratorio, semi-campo e campo.

3.2. MATERIALI E METODI

3.2.1. ESTRAZIONE DELLE SOSTANZE VOLATILI EMESSE DA *G.*

ACUTEANGULATUS

L'estrazione delle sostanze emesse da *G. acuteangulatus* è stata effettuata con tre modalità: I) immersione degli insetti in solvente; II) raccolta mediante flusso d'aria; III) captazione statica dello spazio di testa.

Per verificare l'efficacia dei metodi di estrazione, oltre agli adulti di *G. acuteangulatus* sono stati utilizzati anche adulti di *Nezara viridula* (L.), poiché per questa specie sono già noti in letteratura i componenti dei feromoni

(Lockwood e Story, 1985, 1987; Aldrich *et al.*, 1987; Pavis, 1987; Aldrich, 1988; Millar, 2005; Moraes *et al.*, 2008).

Tutte le sostanze ottenute con le tre modalità di estrazione sono state analizzate mediante gascromatografo (GC) e spettrometro di massa (MS) presso un laboratorio chimico privato.

Immersione in solvente. Per l'estrazione sono stati utilizzati i seguenti solventi: diclorometano, pentano, toluene, etile acetato. Gli insetti vivi, in attività riproduttiva, provenienti dagli allevamenti allestiti nelle celle climatizzate del DIVAPRA Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente dell'Università degli Studi di Torino, sono stati inseriti singolarmente in provette di vetro (15 ml) contenenti 1 g di solvente. Le provette sono state sottoposte ad agitazione orbitale per 1, 24 o 48 ore; successivamente il solvente è stato recuperato con pipetta Pasteur in vetro ed è stato analizzato con GC-SM.

Raccolta dei volatili mediante flusso d'aria. È stato predisposto un sistema di raccolta delle sostanze volatili composto da 15 cilindri in vetro (volume 2,5 l), ciascuno chiuso alle due estremità con rete metallica, all'interno dei quali sono stati introdotti gli insetti. Un flusso d'aria continuo di $0,5 \text{ l min}^{-1}$, prodotto attraverso un purificatore d'aria (AIR 250, Airum s.r.l., Bologna, Italy), arrivava separatamente a ciascun cilindro mediante tubi in metallo e gomma, e lo attraversava per trasportarne all'esterno le sostanze volatili emesse dagli insetti. Poi, per mezzo di tubi in vetro a tenuta, le sostanze volatili venivano intrappolate, separatamente per ciascun cilindro, in una trappola criogenica "a dito freddo" raffreddata con anidride carbonica solida in pellet. Nei tubi in uscita di alcuni cilindri è stata inoltre applicata una fibra SPME trifasica (tipo DVB/CAR/PDMS, 1 cm, coating 30-50 μm , StableFlexTM). Le molecole raccolte nelle trappole a dito freddo e nelle fibre SPME sono state analizzate con GC-MS.

In ciascun cilindro sono stati inseriti e mantenuti per un tempo variabile da 24 a 70 ore adulti di *G. acuteangulatus* o *N. viridula*, divisi in gruppi da 10 a 50 individui dello stesso sesso, con fagiolini e nocciole sgusciate come nutrimento e un batuffolo di cotone inumidito. Come controllo negativo, in alcuni cilindri è stato posto soltanto nutrimento (fagiolini, nocciole e cotone) o nulla. Ciascuna tesi

prevedeva da 3 a 5 repliche (in un solo caso, dato l'elevato numero di adulti impiegati, le ripetizioni sono state soltanto 2). Le tesi a confronto sono elencate in Tabella 2.

Tabella 2. Prove di raccolta delle sostanze volatili emesse da adulti di *Gonocerus acuteangulatus* (GA) e *Nezara viridula* (NV) tramite flusso d'aria.

Tesi	specie	individui	nutrimento	rip.	durata
1	-	-	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	30 ore
2	GA	33 maschi	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
3	GA	33 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
4	NV	33 maschi	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
5	NV	33 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
tesi	specie	individui	nutrimento	rip.	durata
1	-	-	fagiolini, nocciole, cotone umido	5	24 ore
2	GA	10 maschi	fagiolini, nocciole, cotone umido	5	
3	GA	10 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	5	
tesi	specie	individui	nutrimento	rip.	durata
1	-	-	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	70 ore
2	-	-	-	3	
3	GA	20 maschi	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
4	GA	20 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
5	GA	10 maschi, 10 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	
tesi	specie	individui	nutrimento	rip.	durata
1	-	-	fagiolini, nocciole, cotone umido	3	24 ore
2	GA	50 maschi	fagiolini, nocciole, cotone umido	2	
3	GA	50 femmine	fagiolini, nocciole, cotone umido	2	

Captazione statica dello spazio di testa. Prima di essere utilizzati, gli adulti sono stati mantenuti isolati singolarmente per tre giorni in capsule di Petri in vetro (\varnothing 135 mm), alimentati soltanto con soluzione acquosa di glucosio al 5%, somministrata con batuffolo di cotone idrofilo, al fine di depurarli da eventuali sostanze volatili assunte con la dieta. Successivamente sono stati trasferiti in provette in vetro di diverse dimensioni, singolarmente o in gruppo, insieme a un batuffolo di cotone idrofilo imbevuto di soluzione di glucosio al 5% come nutrimento. Le provette sono state poste in condizioni di laboratorio con

temperatura di 22°C e illuminazione artificiale per 9 ore al giorno. Lo spazio di testa statico (senza movimentazione o ricambio d'aria) è stato captato per 24 ore con la fibra SPME trifasica (sopra descritta), desorbito e analizzato mediante GC-SM. Nelle varie fasi di preparazione sono stati utilizzati contenitori e utensili in vetro ed eventualmente in polimeri già impiegati nell'analisi cromatografica. Le prove sono state eseguite: 1) in provette da 15 ml introducendo singolarmente adulti in attività riproduttiva di *G. acuteangulatus* e *N. viridula* provenienti da campo; 2) in provette di vetro (50 ml) introducendo gruppi di sei adulti di *G. acuteangulatus* dello stesso sesso e in condizioni omogenee, in particolare:

- adulti all'inizio della ripresa dell'attività dopo la diapausa invernale, portati gradualmente dalle condizioni ambientali naturali alla temperatura di 24°C in cella climatizzata, in gabbie separate per sesso;
- adulti in piena attività prelevati in campo durante la stagione primaverile-estiva e posti per un periodo variabile in allevamento;
- adulti neosfarfallati vergini, ottenuti in allevamento e mantenuti separati per sesso (Tabella 3).

Tabella 3. Prove di raccolta delle sostanze volatili emesse da adulti di *Gonocerus acuteangulatus* (GA) e *Nezara viridula* (NV) mediante captazione statica dello spazio di testa.

Tesi	specie	individui	ripetizioni	caratteristiche
1	NV	1 maschio	12	in attività prelevati in campo
2	NV	1 femmina	12	in attività prelevati in campo
3	GA	1 maschio	12	in attività prelevati in campo
4	GA	1 femmina	12	in attività prelevati in campo
5	GA	6 maschi	3	uscenti dalla diapausa
6	GA	6 femmine	3	uscenti dalla diapausa
7	GA	6 maschi	12	in attività prelevati in campo
8	GA	6 femmine	12	in attività prelevati in campo
9	GA	6 maschi	6	vergini neosfarfallati
10	GA	6 femmine	6	vergini neosfarfallati

3.2.2. BIOSAGGI IN OLFATTOMETRO

Feromoni naturali. Per i biosaggi è stato utilizzato un olfattometro a Y costituito da tre tubi in vetro (\varnothing interno 37 mm) saldati insieme (Figura 8). Il braccio

centrale e i due bracci secondari, inclinati a 70°, erano lunghi 250 mm. Una pompa per acquario (Air 275R, Sera GmbH, Heinsberg, Germania) forniva un flusso d'aria continuo trasportato in tubi di silicone autoclavabili, purificato con filtro a carboni attivi e umidificato con passaggio in acqua distillata e microfiltrata. Tramite una biforcazione in teflon il flusso d'aria si divideva equamente per passare attraverso due ampole in Pyrex® (capacità 500 ml), al cui interno erano poste le fonti odorose da saggiare. Da lì, tramite giunzioni con tappi in gomma e tubi in silicone e metallo (\varnothing 4,5 mm), il flusso arrivava alla velocità di circa 0,01 m s⁻¹ in ciascuno dei due bracci secondari della Y. Qui la velocità dell'aria veniva regolata prima di ogni biosaggio con un flussimetro (EK-2NRK, Comer, Bologna) e controllata con anemometro digitale (TA-410, PCE Group, Lucca).

Durante i biosaggi, adulti di *G. acuteangulatus* sono stati rilasciati singolarmente all'estremità del braccio centrale per osservarne la risposta agli stimoli olfattivi ricevuti. Per ciascun adulto sono stati registrati: 1) il tempo impiegato a percorrere il tubo centrale e almeno 2/3 di uno dei tubi secondari, 2) il braccio secondario scelto. Gli insetti che hanno impiegato più di 10 min per effettuare la scelta non sono stati considerati. Il numero totale di adulti che hanno scelto ciascun braccio è stato confrontato mediante test del χ^2 utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). L'ipotesi nulla era che gli adulti avessero una distribuzione 50:50 fra le due fonti odorose.

Per escludere influenze dovute alla posizione della fonte odorosa, ogni cinque ripetizioni i collegamenti delle ampole ai bracci secondari sono stati invertiti, ed ogni 10 ripetizioni la Y in vetro è stata lavata con sapone neutro e risciacquata con alcool etilico denaturato e acqua deionizzata. Al termine di ogni prova, e per ciascuna tesi, tutto l'apparato è stato lavato con sapone neutro e risciacquato con alcool etilico denaturato e acqua deionizzata; le ampole in vetro e i tubi di silicone sono inoltre stati posti in autoclave a 120°C per 20 min.

Le prove sono state condotte con insetti, prelevati dagli allevamenti allestiti in laboratorio, in tre diverse fasi: uscenti dalla diapausa invernale, in attività riproduttiva, prossimi alla diapausa. Prima di essere utilizzati nei biosaggi, gli adulti sono stati isolati singolarmente in provette di vetro con tappo di cotone inumidito per 8 ore, al fine di eliminare eventuali condizioni di saturazione delle

antenne causate dagli odori presenti in allevamento. Come fonti odorose, all'interno delle ampolle sono stati inseriti tre adulti dello stesso sesso, prelevati dagli allevamenti massali e sostituiti ogni 10 ripetizioni, con un batuffolo di cotone imbevuto d'acqua. Nelle ampolle utilizzate come controllo negativo è stato inserito il solo batuffolo di cotone imbevuto d'acqua.

Per mettere a punto il metodo più idoneo per saggiare individui di *G. acuteangulatus*, sono state condotte prove preliminari, ponendo la Y verticale, lievemente inclinata sul piano orizzontale e orizzontale. Inoltre l'illuminazione pari a ~350 lux, fornita da lampade a fluorescenza poste al di sopra della Y, è stata in alternativa diretta o diffusa tramite una plancia in plexiglas collocata al di sotto delle lampade; al di sopra delle ampolle è stata posta una lampada a fluorescenza libera (~270 lux); l'ambiente è stato isolato con rivestimenti di cartone alternativamente neri o bianchi. L'illuminazione è stata misurata con luxmetro digitale (PCE 172, PCE Group, Lucca).

Le tesi a confronto sono state:

- femmina \Rightarrow 3 maschi vs vuoto
- femmina \Rightarrow 3 femmine vs vuoto
- maschio \Rightarrow 3 maschi vs vuoto
- maschio \Rightarrow 3 femmine vs vuoto

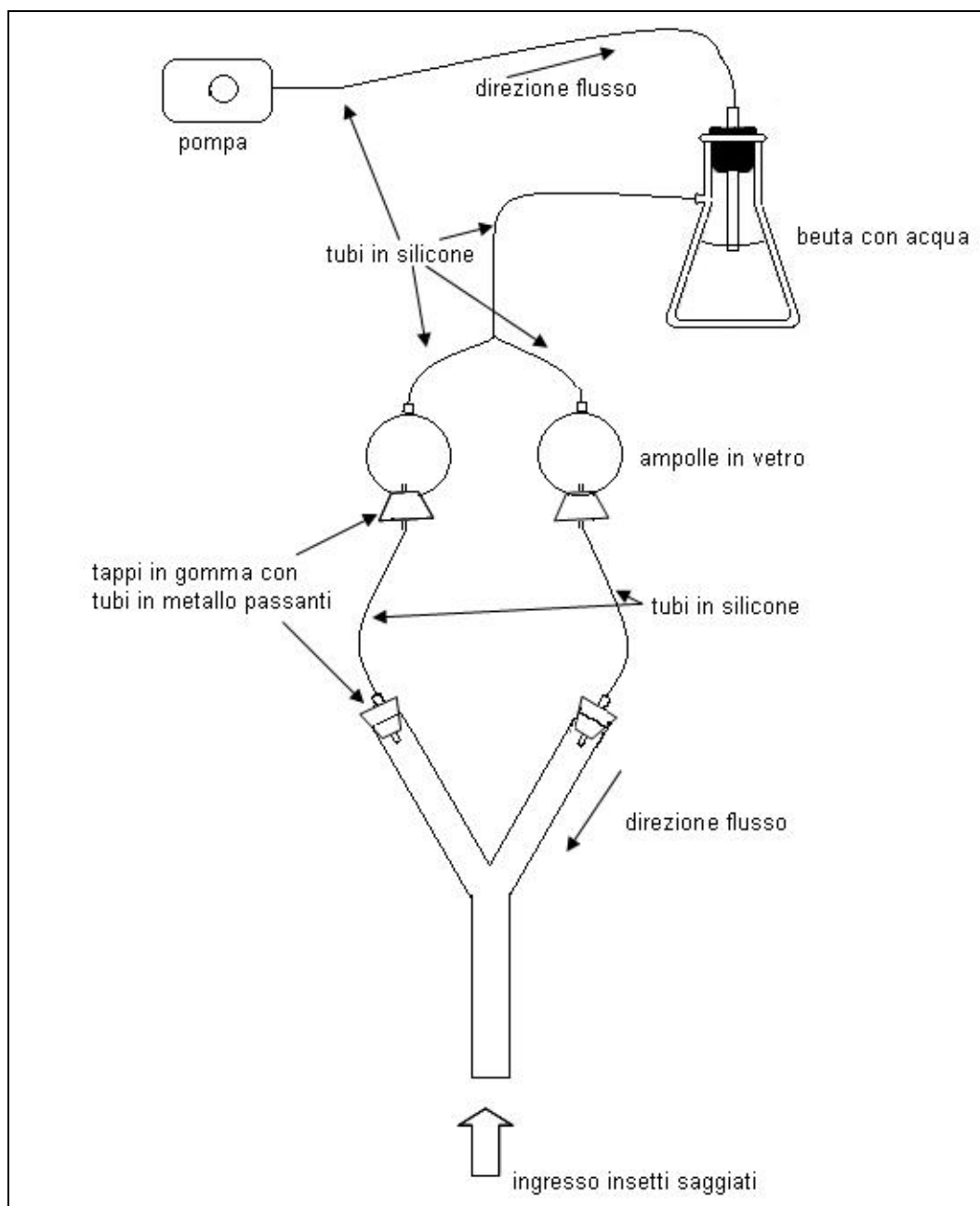


Figura 8. Schema dell'allestimento dell'olfattometro a Y.

Feromoni di sintesi. Gli analoghi di sintesi di alcune sostanze identificate durante le captazioni, in miscela, sono stati analizzati con un allestimento dell'olfattometro riadattato. Per non causare una volatilizzazione troppo rapida delle sostanze è stato necessario generare un flusso d'aria secondario attraverso una pompa aggiuntiva (Air 275R, Sera GmbH, Heinsberg, Germania) a intensità molto bassa (50 ml min^{-1}), che è stato fatto pervenire, dopo biforcazione, a ciascuna delle due camere contenenti le fonti odorose per poi congiungersi ai due

semiflussi principali diretti ai due bracci secondari. Sono state utilizzate tre diverse tipologie di camere:

- due gorgogliatori in vetro con setto poroso (volume 125 ml);
- due ampole in vetro (volume 500 ml);
- due campane in vetro (volume 6 l).

All'interno dei gorgogliatori, per garantire la regolare volatilizzazione delle sostanze diluite, la soluzione è stata costantemente miscelata mediante l'impiego di un'ancoretta mantenuta in rotazione da un agitatore. Nei gorgogliatori sono stati introdotti:

- analoghi di sintesi diluiti in mezzo oleoso (diluizione 0,01%);
- solo mezzo oleoso.

All'interno delle ampole e delle campane in vetro sono stati invece inseriti:

- 0,1 µl di sostanze volatili su carta bibula;
- 0,1 µl di acqua su carta bibula.

Le tesi a confronto sono riportate in Tabella 4.

Tabella 4. Biosaggi in olfattometro per la valutazione della risposta comportamentale di *Gonocerus acuteangulatus* a sostanze di sintesi singole o in miscela.

Insetti saggiati	camera utilizzata	fonte odorosa
maschi	gorgogliatore	miscele in solvente oleoso (0,01%) vs solvente oleoso
femmine	gorgogliatore	miscele in solvente oleoso (0,01%) vs solvente oleoso
maschi	campana	miscele (2 µl) su carta da filtro vs acqua su carta da filtro
femmine	campana	miscele (2 µl) su carta da filtro vs acqua su carta da filtro

3.2.3. BIOSAGGI IN Elettroantennografo

L'apparato EAG (Syntech[®] ltd, Hilversum, Olanda) era collegato a un computer tramite un acquisitore di segnale (IDAC 4, Syntech[®]). Il segnale proveniente dall'antenna è stato amplificato 10 volte e registrato con il software EAG-Pro (Syntech[®] software). All'antenna arrivava un flusso d'aria continuo e un flusso d'aria pulsato (rispettivamente 1,2 l min⁻¹ e 0,6 l min⁻¹), compensato, dedicato agli stimoli odorosi da saggiare (entrambi i flussi erano generati dallo Stimulus controller CS55). Gli stimoli odorosi erano costituiti da 2 µl della sostanza da saggiare applicati su una striscia di carta da filtro (5 × 20 mm)

imbevuta con 2 μ l di olio di paraffina. La striscia di carta da filtro era inserita all'interno di una pipetta Pasteur (lunghezza 230 mm, \varnothing interno punta 1 mm, \varnothing interno base 5 mm), attraverso la quale veniva fatto passare il flusso d'aria pulsato; la pipetta veniva poi inserita in un foro nel tubo metallico portante il flusso continuo all'antenna. Lo schema dell'allestimento è riportato in Figura 9. Sono stati utilizzati: come controllo positivo 2 μ l di (E)-2-hexenal, noto in bibliografia come prodotto da adulti e stadi giovanili di diverse specie di coreidi (Aldrich e Yonke, 1975); come controlli negativi una pipetta contenente la sola paraffina e una pipetta completamente vuota.

Per i biosaggi sono state utilizzate antenne di adulti di *G. acuteangulatus* in attività, recise a partire dallo scapo; ad ogni insetto è stata amputata una sola antenna. Ciascuna estremità dell'antenna è stata inserita tramite l'ausilio di due micromanipolatori (MP-15) all'interno di un microcapillare in vetro riempito con soluzione salina (KCl 0,1M) e inserito a sua volta su un elettrodo in argento, collegato all'apparato di registrazione del segnale. Ciascuno stimolo è stato somministrato a ciascuna antenna per 0,5 sec, con tre ripetizioni a distanza di 10 sec una dall'altra. Le risposte ottenute da ciascuna antenna alle tre ripetizioni (differenza di potenziale dell'antenna espresso in mV) sono state mediate, poi normalizzate rispetto al controllo positivo.

Con molecole di sintesi sono state effettuate le seguenti serie di biosaggi:

- confronto fra 11 sostanze o miscele di sostanze identificate durante le captazioni, utilizzando 10 antenne destre e 10 antenne sinistre di maschi e 10 antenne destre e 10 antenne sinistre di femmine;
- confronto fra 21 sostanze tra cui: I) molecole identificate durante le captazioni, estratte dagli insetti in condizioni sia di quiete che di stress; II) molecole di altra provenienza come il tert-butil-metil-etere, additivo estremamente volatile della benzina, e il tridecano, feromone di *N. viridula* (Lockwood e Story, 1985; Colazza *et al.*, 2004); III) molecole chimicamente simili alle tre selezionate per la composizione della miscela poiché è stata accertata, per i lepidotteri, l'esistenza di "paraferomoni", sostanze chimicamente simili ai feromoni che inducono modificazioni del comportamento degli insetti riceventi, sebbene siano necessari ulteriori studi per approfondire le conoscenze sui loro effetti, non comuni a tutte le specie

- (Renou e Guerrero, 2000), utilizzando 3 antenne destre e 3 antenne sinistre di maschi e 3 antenne destre e 3 antenne sinistre di femmine;
- determinazione delle curve dose-risposta alle tre sostanze e alla loro miscela, utilizzando 3 antenne destre di femmine e 3 antenne destre di maschi.

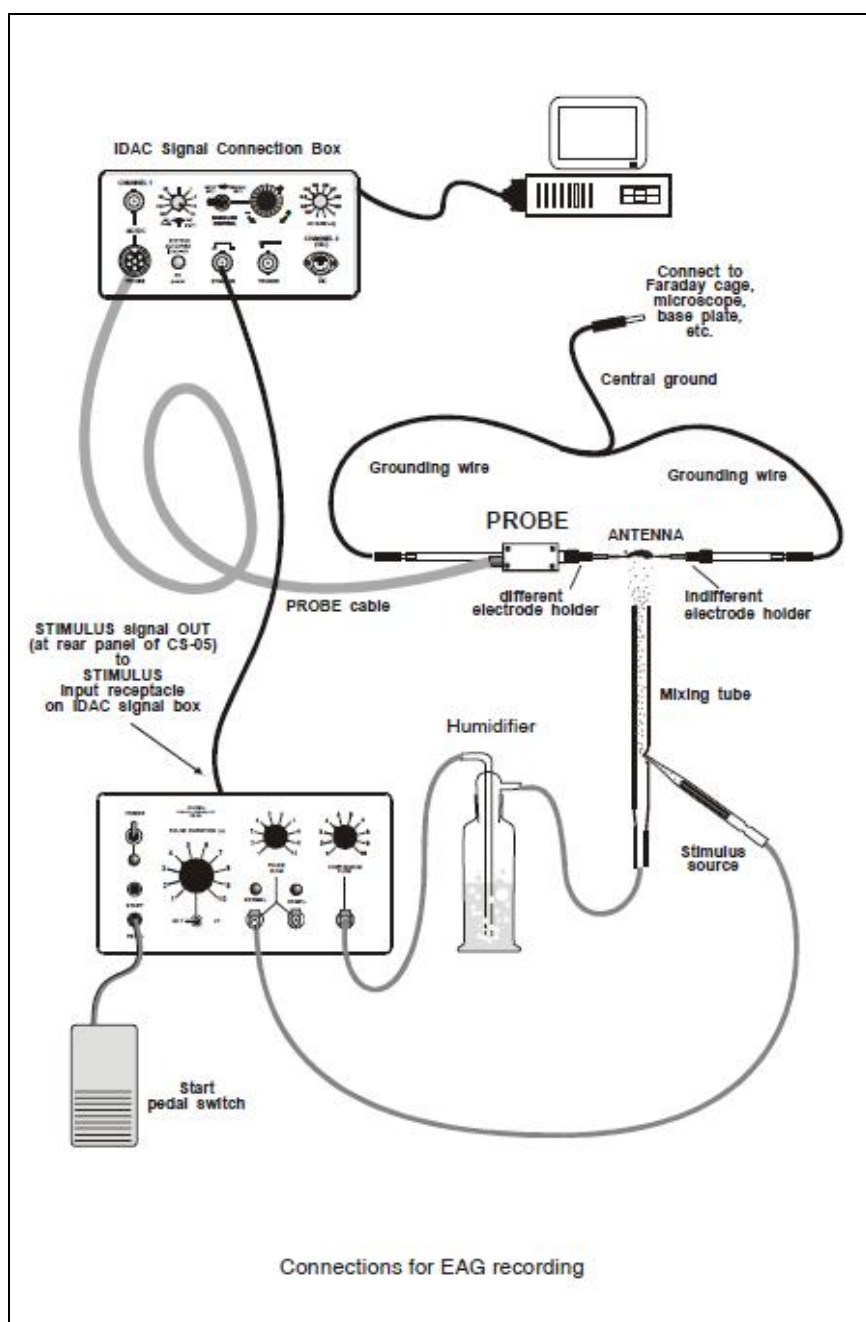


Figura 9. Schema dell'allestimento della strumentazione per i biosaggi con elettroantennografia.

3.2.4. PROVE IN SEMI-CAMPO

Prova in arboreto. Nell'estate 2011 sono state effettuate ulteriori osservazioni sul comportamento di *G. acuteangulatus* in condizioni ambientali presso l'arboreto del DIVAPRA all'interno di una serra in rete ($5 \times 3 \times 3$ m), dove sono state posizionate 16 piante di bosso in vaso secondo lo schema riportato in Figura 10, ciascuna con un piatto con nocciole sgusciate alla base. Le piante di bosso, contrassegnate con le sigle T1, T2, T3 e T4, erano isolate all'interno di gabbie di plexiglas e rete di nylon ($40 \times 40 \times 50$ cm), costituivano le tesi a confronto, ed erano ruotate in ogni saggio. Lo schema delle prove in semicampo è riportato in Tabella 5. In dettaglio, nelle prime tre prove le tesi a confronto sono state: 20 femmine e nocciole sgusciate; 20 maschi e nocciole sgusciate; 10 maschi e 10 femmine e nocciole sgusciate; solo nocciole sgusciate. Nelle successive tre prove le tesi a confronto sono state: 20 femmine e nocciole sgusciate; un erogatore con la miscela feromonale selezionata (10 mg); solo nocciole sgusciate (due ripetizioni).

All'interno della serra sono stati rilasciati per ciascuna prova 60 maschi di *G. acuteangulatus*, poi per cinque giorni sono stati effettuati tre rilievi giornalieri (alle ore 09:30, 13:30, 17:30), durante i quali gli adulti sono stati osservati e conteggiati in relazione alla loro posizione, in prossimità delle tesi a confronto o sulle pareti della serra. Le percentuali di adulti osservati sui tre bossi vicini a ciascuna tesi rispetto al numero di adulti osservati in totale sui bossi in ciascun rilievo sono state trasformate in arcoseno della radice quadrata e analizzate, nell'ambito di ciascuna prova, dopo averne accertato l'omogeneità (test di Levene) e la normalità (test di Shapiro-Wilk), con ANOVA a una via, successivamente le medie sono state separate con il test di Tukey, utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

Tabella 5. Tesi a confronto nelle prove in semi-campo condotte all'interno di una serra in rete presso l'arboreto del DIVAPRA nell'estate 2011.

tesi	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5	Prova 6
T1	20ff	testimone	testimone	testimone	testimone	testimone
T2	10ff+10mm	20ff	20ff	20ff	miscela	20ff
T3	20mm	10ff+10mm	10ff+10mm	miscela	20ff	miscela
T4	testimone	20mm	20mm	testimone	testimone	testimone

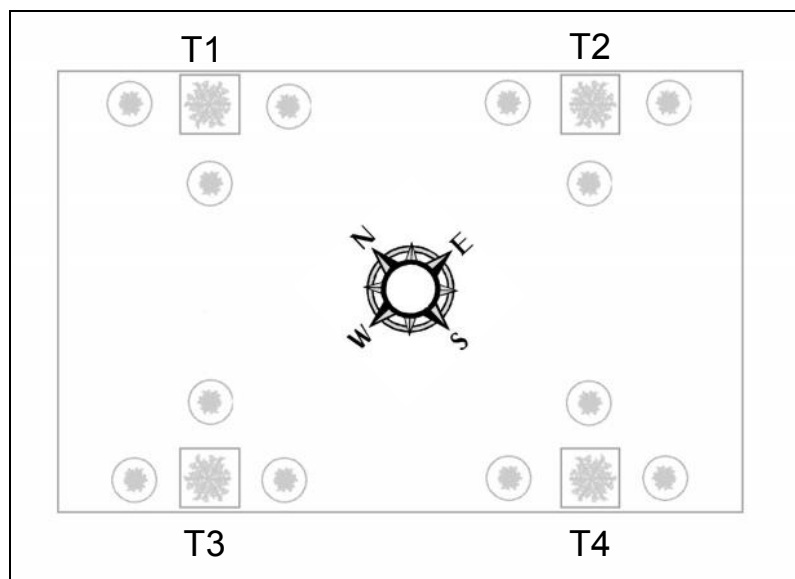


Figura 10. Allestimento delle prove in arboreto condotte nell'estate 2011.

Prova in serra. Nel 2012, per valutare l'eventuale attrattività della miscela feromonale selezionata, è stata condotta una prova in condizioni controllate in serra riscaldata ($T 25 \pm 3^{\circ}\text{C}$). All'interno di una gabbia in rete ($1,5 \times 1,5 \times 1,1 \text{ m}$) collocata su bancale sono stati posizionati in due angoli opposti supporti contenenti nocchie sgusciate (Figura 11). Poi nelle vicinanze dei due supporti sono state poste le seguenti tesi:

- isolatore in rete con sei maschi vs isolatore in rete vuoto;
- isolatore in rete con sei femmine vs isolatore in rete vuoto;
- erogatore con miscela feromonale vs erogatore.

Durante ciascun saggio, sei adulti dello stesso sesso sono stati liberati al centro della gabbia e osservati per un'ora ad intervalli di 15 min per rilevarne la posizione all'interno della gabbia. La gabbia è stata idealmente suddivisa in tre zone (due vicine alle tesi, una centrale), e durante le osservazioni sono stati conteggiati gli adulti presenti in ciascuna zona. Sono state effettuate tre ripetizioni per ciascuna coppia di tesi a confronto. Il numero di adulti rinvenuto in ciascuna zona è stato analizzato, dopo averne accertato l'omogeneità (test di Levene) e la normalità (test di Shapiro-Wilk), con ANOVA a una via, successivamente le

medie sono state separate con il test di Tukey, utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

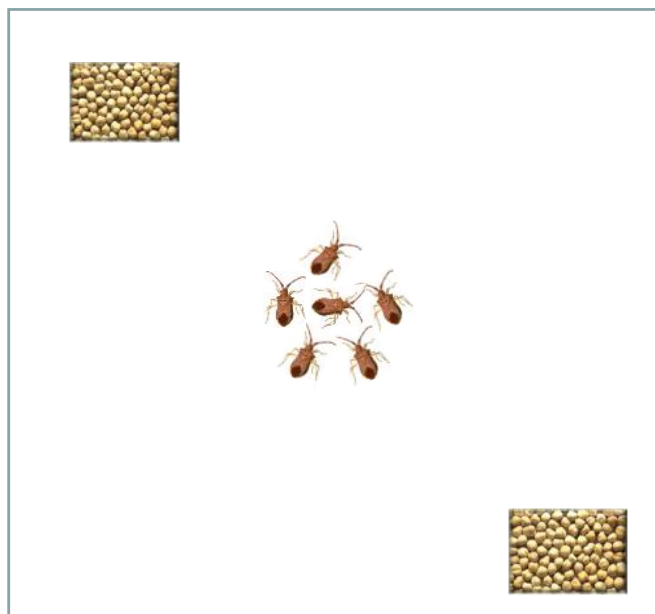


Figura 11. Allestimento delle prove in serra condotte nell'estate 2012.

3.2.5. PROVE IN CAMPO

Dal 28 luglio al 25 agosto 2011 sono state collocate trappole con erogatori impregnati della miscela di sintesi selezionata nei seguenti corileti:

- corileto biologico presso l'azienda sperimentale della Scuola Teorico Pratica Malva-Arnaldi a Bibiana (TO) (44°47'51.22"N, 7°17'0.23"E, 406 m s.l.m.);
- corileto sperimentale presso l'azienda sperimentale Tetti Grondana dell'Università degli Studi di Torino ad Andezeno (TO) (45°2'28.69"N, 7°50'4.90"E, 306 m s.l.m.);
- corileto biologico a Cissone (CN) (44°33'57.36"N, 8°1'39.37"E, 661 m s.l.m.);
- corileto a difesa integrata a Magliano Alfieri (CN) (44°45'48.55"N, 8°3'17.84"E, 328 m s.l.m.);
- corileto a difesa integrata a Priocca (CN) (44°46'47.21"N, 8°4'32.46"E, 253 m s.l.m.).

In ciascun corileto sono state collocate sei tipologie di erogatore: tre in caucciù (C) e tre in polietilene (P), caricati con tre diverse concentrazioni della miscela selezionata (0,1 mg; 1 mg; 10 mg). Gli erogatori sono stati posti sulle

piante in modo che fra uno e l'altro ci fosse una distanza di almeno 15 m. Inizialmente, nella prima settimana, in abbinamento agli erogatori sono state collocate trappole cromotattiche gialle (40×25 cm), presenti in commercio, rinforzate con un ulteriore strato di colla entomologica; successivamente, dal 4 agosto, le trappole cromotattiche sono state sostituite con altre realizzate con bottiglie di plastica secondo i modelli descritti in Borges *et al.* (1998) (Figura 12a, b, c). In data 11 agosto, gli erogatori in polietilene e caucciù con dose 0,1 mg sono stati sostituiti con altri erogatori in caucciù con dose 10 mg della miscela. In ciascun corileto sono state collocate due ulteriori trappole senza erogatore come testimone, in posizione centrale.

Inoltre in un boschetto di bossi all'interno del Parco del Castello di Racconigi (CN) ($44^{\circ}47'12.18''N$, $7^{\circ}40'13.35''E$, 260 m s.l.m.), ove erano state effettuate nei mesi precedenti abbondanti catture di adulti di *G. acuteangulatus*, sono stati collocati i soli erogatori, senza trappole, su piante di bosso ed altre specie arboree vicine.

La presenza di *G. acuteangulatus* nei corileti e nel boschetto di bossi è stata rilevata bisettimanalmente mediante osservazione delle trappole e scuotimento delle piante di nocciolo e di bosso, sulle quali erano posizionati gli erogatori, e di due piante testimone in ciascun appezzamento: tre branche per pianta venivano scosse con cinque battute ponendo al di sotto un telo bianco ($0,7 \times 0,7$ m). Inoltre alla raccolta sono stati prelevati dalla produzione di ciascuna delle piante indagate nei corileti tre campioni di 50 nocciole, inseriti separatamente in sacchetti di carta e trasferiti in laboratorio. Qui le nocciole sono state sgusciate e sezionate in quattro parti per verificare la presenza di alterazioni a carico del seme causate da punture di nutrizione. Le percentuali di cimiciato sul numero totale di nocciole osservate, esclusi i frutti vuoti, sono state prima trasformate in arcoseno della radice quadrata, poiché il numero di nocciole a disposizione non era costante, e analizzate, dopo averne accertato l'omogeneità (test di Levene) e la normalità (test di Shapiro-Wilk), con ANOVA a una via utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).



Figura 12. Trappole per la cattura di *Gonocerus acuteangulatus*: bottiglie di plastica, realizzate come descritto da Borges *et al.* (1998), con accesso dal basso (a), con accesso laterale (b), trappola cromotattica commerciale adesiva (c).

3.3. RISULTATI

3.3.1. ESTRAZIONE DELLE SOSTANZE VOLATILI EMESSE DA *G.*

ACUTEANGULATUS

Estrazione in solvente. Le sostanze ottenute mediante immersione in diclorometano degli adulti di *N. viridula* non differivano da quelle riportate in letteratura (Lockwood & Story, 1985; Pavis, 1987; Brezot *et al.*, 1994; Fucarino *et al.*, 2004; Millar, 2005; Moraes *et al.*, 2008). I migliori risultati con entrambe le specie sono stati ottenuti con diclorometano e agitazione orbitale di 1 ora. Pentano, toluene ed etile acetato hanno fornito profili estrattivi peggiori sul piano sia quantitativo che qualitativo e un'esposizione al solvente più prolungata e/o a temperature più elevate non ha incrementato in modo significativo la concentrazione di sostanze volatili, liberando invece nella soluzione quote di lipidi (dati non riportati).

Raccolta dei volatili mediante flusso d'aria. Con questo sistema non è stato possibile rilevare molecole volatili prodotte dagli insetti al netto di quelle emesse dagli alimenti e delle interferenze ambientali. Inoltre, il flusso dell'aria probabilmente troppo elevato ha ridotto la capacità di captazione sia della fibra SPME che della trappola criogenica. Anche diversi tentativi di post-concentrazione dei componenti, come concentrazione su cartuccia SPE, estrazione con solventi apolari e captazione SPME sul condensato criogenico, non hanno dato esito diverso.

Captazione statica dello spazio di testa. Questo sistema si è dimostrato efficace per il rilievo dei volatili emessi dagli insetti saggiati. Le sostanze ottenute con *N. viridula* erano simili a quelle riportate in letteratura (Lockwood & Story, 1985; Aldrich *et al.*, 1987; Brezot *et al.*, 1994; Ryan *et al.*, 1995, McBrien e Millar, 1999; Miklas *et al.*, 2000; Millar, 2005; Moraes *et al.*, 2008) ed è stata riscontrata un'elevata variabilità individuale per entrambi i sessi, in modo particolarmente rilevante per i maschi, come già osservato in studi precedenti (Miklas *et al.*, 2000; Ryan *et al.*, 1995).

Per quanto riguarda *G. acuteangulatus*, dalle analisi delle sostanze volatili estratte mediante captazione statica sono state riscontrate differenze nell'emissione fra gli adulti dei due sessi; in particolare, le femmine hanno mostrato di emettere molte sostanze, mentre i maschi non hanno emesso pressoché alcuna sostanza volatile se non in condizioni di stress. Non sono state rilevate invece differenze tra le sostanze emesse dagli adulti in diverse condizioni fisiologiche. Fra le sostanze emesse dalle femmine in situazione di quiete, ne sono state selezionate tre, indicate con i numeri "1", "2" e "3", per formare una miscela feromonale contrassegnata con la sigla "MF" da sottoporre alle successive valutazioni.

3.3.2. BIOSAGGI IN OLFATTOMETRO

A seguito dei risultati ottenuti nelle prove preliminari per la messa a punto del metodo, è stato scelto di posizionare la Y lievemente inclinata (15 mm) sul piano orizzontale, su superficie bianca circondata da pareti bianche, poiché è stata rilevata negli adulti di *G. acuteangulatus* una diminuzione di attività in condizioni di scarsa illuminazione (rivestimenti in cartone nero); al contrario un'illuminazione maggiore (diffusa con rivestimenti in cartone bianco e plancia in plexiglas sotto le lampade per eliminare la direzionalità dello stimolo luminoso) ne ha favorito il movimento e la tendenza all'esplorazione. Inoltre, alcuni individui hanno mostrato difficoltà a permanere a lungo sulla superficie dei tubi in vetro in posizione verticale. Tuttavia fattore determinante è stato il comportamento durante il volo: *G. acuteangulatus* ha mostrato buona capacità di muoversi in volo all'interno della Y in posizione orizzontale, mentre non è stato in grado di volare all'interno della Y in posizione verticale, sbattendo contro le

pareti interne. Questo dato è stato influente in quanto in molte occasioni, quando fortemente attratti, gli adulti di *G. acuteangulatus* si sono mossi volando all'interno dell'olfattometro verso la fonte odorosa sottoposta.

Feromoni naturali. Dopo analisi dei dati mediante il test χ^2 le femmine uscenti dalla diapausa e in attività sono risultate attrattive sia nei confronti dei maschi ($\chi^2 = 9,30$; $P = 0,004$) che delle femmine ($\chi^2 = 6,94$; $P=0,016$) nello stesso stato fisiologico (Figura 13); un alto numero di individui tuttavia non ha effettuato una scelta nei tempi stabiliti. Gli adulti in prossimità della diapausa non hanno invece fornito risposte soddisfacenti in olfattometro, soprattutto a causa del numero ancora maggiore di “non scelte” (dati non riportati).

		maschi		vuoto	non scelta
maschi		8	13	p=0,275	5
femmine	*	44	21	p=0,004	28
		femmine			
maschi		26	22	p=0,564	27
femmine	*	24	10	p=0,016	25

Figura 13. Risposte in olfattometro a Y di adulti di *Gonocerus acuteangulatus* verso adulti conspecifici nelle prove condotte nel biennio 2010-2011. Il test χ^2 saggiava l'ipotesi nulla che la distribuzione tra i due rami della Y fosse la medesima.

Feromoni di sintesi. Le risposte di *G. acuteangulatus* osservate durante i biosaggi con utilizzo di gorgogliatori e campane di vetro sono riportati nelle Figure 14 e 15. Poichè con entrambi i metodi il numero di adulti che non hanno effettuato una scelta entro i tempi stabiliti era pressoché simile, l'impiego dei gorgogliatori è stato abbandonato in quanto notevolmente più complicato senza l'apporto di apprezzabili miglioramenti nei risultati.

Tre miscele sono apparse significativamente attrattive per i maschi nelle prove condotte inserendo le fonti odorose nelle campane di vetro (volume 6 l), ma soltanto durante il primo giorno di saggio. In particolare sono risultate attrattive per i maschi la miscela “MD” ($\chi^2 = 4,50$; $P = 0,046$), la miscela “ME” ($\chi^2 = 6,62$; $P = 0,029$) e la miscela “MF” ($\chi^2 = 31,43$; $P = 0,001$). I risultati ottenuti durante il

primo giorno di saggio non sono però mai stati confermati nei giorni successivi, nemmeno a distanza di settimane.

		vuoto	non scelta
MA	<div> <div>23</div> <div>m</div> <div>33</div> </div>	p=0,181	11
MA	<div> <div>3</div> <div>f</div> <div>6</div> </div>	p=0,317	5
MD	<div> <div>20</div> <div>m</div> <div>19</div> </div>	p=0,873	14
MD	<div> <div>16</div> <div>f</div> <div>7</div> </div>	p=0,061	19

Figura 14. Risposte in olfattometro a Y di maschi (m) e femmine (f) di *Gonocerus acuteangulatus* nei confronti delle miscele di sintesi saggate con gorgogliatore.

		vuoto	non scelta
MB	<div> <div>9</div> <div>m</div> <div>12</div> </div>	p=0,513	12
MB	<div> <div>6</div> <div>f</div> <div>13</div> </div>	p=0,108	7
MC	<div> <div>25</div> <div>m</div> <div>37</div> </div>	p=0,128	9
MC	<div> <div>8</div> <div>f</div> <div>15</div> </div>	p=0,144	11
MD g1	<div> <div>24</div> <div>m</div> <div>12</div> </div>	p=0,046	15
MD g2	<div> <div>13</div> <div>m</div> <div>15</div> </div>	p=0,705	2
MD g1	<div> <div>7</div> <div>f</div> <div>7</div> </div>	p=1,000	10
MD g2	<div> <div>5</div> <div>f</div> <div>6</div> </div>	p=0,763	4
ME g1	<div> <div>13</div> <div>m</div> <div>4</div> </div>	p=0,029	5
ME g2	<div> <div>11</div> <div>m</div> <div>6</div> </div>	p=0,225	3
ME g1	<div> <div>7</div> <div>f</div> <div>6</div> </div>	p=0,782	7
ME g2	<div> <div>7</div> <div>f</div> <div>6</div> </div>	p=0,782	7
MF g1	<div> <div>17</div> <div>m</div> <div>2</div> </div>	p=0,001	5
MF g2	<div> <div>6</div> <div>m</div> <div>13</div> </div>	p=0,108	11
MF g1	<div> <div>2</div> <div>f</div> <div>4</div> </div>	p=0,414	4
MF g2	<div> <div>2</div> <div>f</div> <div>2</div> </div>	p=1,000	20

Figura 15. Risposte in olfattometro di maschi (m) e femmine (f) di *Gonocerus acuteangulatus* nei confronti delle miscele di sintesi saggate con campana di vetro (g1 = primo giorno di saggio; g2 = giorno successivo).

3.3.3. BIOSAGGI IN ELETTROANTENNOGRAFO

I risultati della prima serie di biosaggi, in cui sono state confrontate 11 sostanze o miscele, sono riportati in Figura 16. Le sostanze contrassegnate come “1”, “2” e “3” sono i singoli componenti selezionati per la composizione della miscela contrassegnata con la sigla “MF”, mostratasi parzialmente attrattiva nei confronti dei maschi nelle prove in olfattometro. Non sono state rilevate differenze statisticamente significative nella percezione delle sostanze tra antenne destre e sinistre né nei maschi (ANOVA: gdl = 1,280; $F = 0,634$; $P = 0,427$), né nelle femmine (ANOVA: gdl = 1,280; $F = 3,256$; $P = 0,072$), mentre sono state osservate differenze significative tra maschi e femmine nella percezione delle quattro sostanze contrassegnate come “2” (ANOVA: gdl = 1,36; $F = 8,080$; $P = 0,007$), “d” (ANOVA: gdl = 1,36; $F = 8,735$; $P = 0,022$), “e” (ANOVA: gdl = 1,36; $F = 6,823$; $P = 0,013$), “MF” (ANOVA: gdl = 1,36; $F = 4,825$; $P = 0,035$).

I controlli negativi, paraffina e vuoto, hanno prodotto risposte molto basse, confondibili con il normale disturbo presente nell'elettroantennogramma, mentre tutte le sostanze o miscele di sostanze volatili saggiate hanno determinato risposte rilevate dall'elettroantennografo, seppur di entità molto diverse. Le risposte osservate sono state suddivise in due grandi gruppi: I) con valore medio inferiore a 0,5; II) con valore medio compreso tra 0,5 e 1,3. Fra le sostanze che hanno provocato risposta maggiore sono comprese quelle siglate con “e”, “f”, “g”, “MF” e “3”. In particolare, la sostanza “3”, componente della miscela “MF”, ha suscitato, somministrata singolarmente, una risposta superiore rispetto alla stessa miscela feromonale. Le altre due componenti “1” e “2” hanno infatti determinato una risposta di molto inferiore sia nei maschi che nelle femmine.

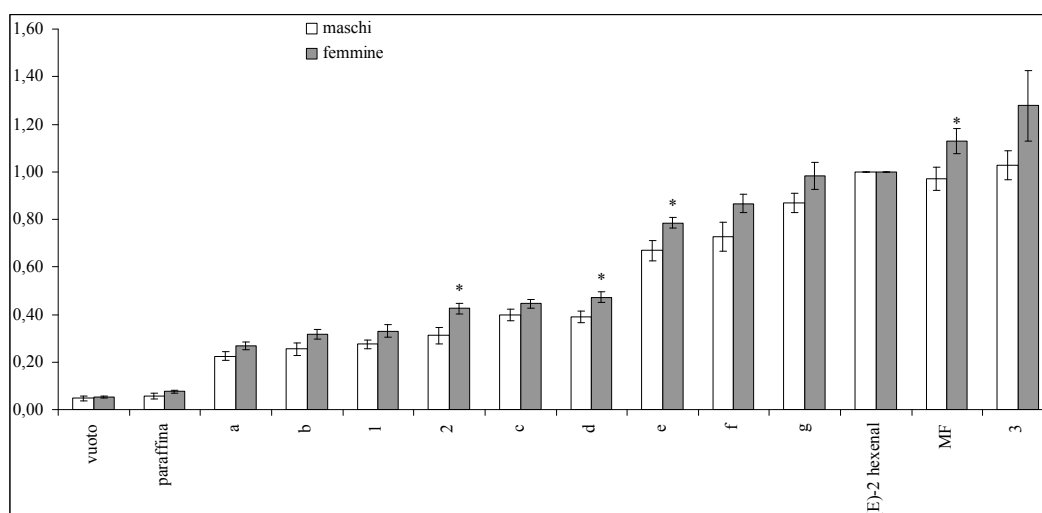


Figura 16 Risposte di maschi e femmine di *Gonocerus acuteangulatus* (n=40) registrate durante i biosaggi in elettroantennografo verso 11 analoghi di sintesi di sostanze volatili identificate durante le captazioni. I valori (media \pm errore standard) sono normalizzati rispetto alla risposta a (E)-2-hexenal (controllo positivo). Le risposte contrassegnate con * indicano differenze significative tra maschi e femmine (ANOVA, $P < 0,05$).

I risultati ottenuti nella seconda serie di biosaggi, in cui sono state confrontate 21 ulteriori sostanze, sono riportati in Figura 17. Le tre sostanze simili alle componenti “1”, “2” e “3” della miscela “MF” sono state siglate rispettivamente con “simil1”, “simil2” e “simil3”. Come nella prova precedente, non sono state rilevate differenze statisticamente significative nelle risposte ottenute con le antenne destre e con le antenne sinistre né per i maschi (ANOVA: gdl = 1,138; $F = 3,190$; $P = 0,077$) né per le femmine (ANOVA: gdl = 1,138; $F = 1,283$; $P = 0,260$), mentre differenze significative nelle risposte dei maschi e delle femmine sono state rilevate soltanto per tert-butyl-methyl ether (ANOVA: gdl = 1,11; $F = 12,367$; $P = 0,006$). Il numero di sostanze che ha determinato una risposta inferiore a 0,5 è stato molto elevato, mentre soltanto cinque sostanze hanno provocato una risposta superiore (siglate con “s”, “t”, “u”, “v” e “simil3”). Le sostanze chimicamente simili alle tre componenti della miscela feromonale selezionata hanno suscitato risposte del tutto sovrapponibili a quelle generate da queste ultime.

Fra tutte le sostanze saggiate nelle due serie di biosaggi, poche hanno causato una risposta simile alla paraffina e al vuoto; l'antenna di *G. acuteangulatus* è apparsa sensibile a quasi tutti i volatili, seppur con risposte di entità molto variabile. A una prima valutazione sembrano distinguersi

chiaramente solo quelle sostanze che hanno determinato risposte simili a quelle suscitate dal controllo [(E)-2-hexenal] o con valori superiori alla metà.

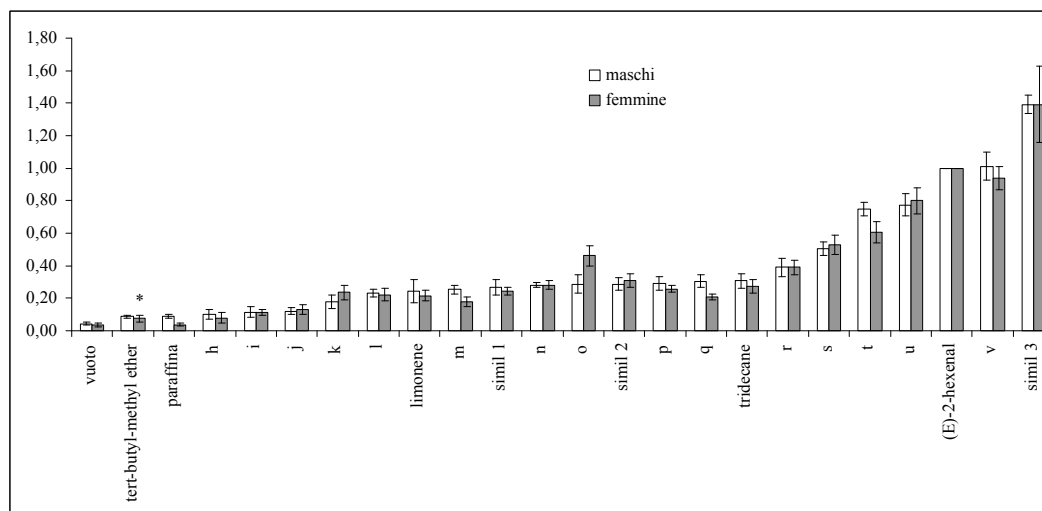


Figura 17. Risposte di maschi e femmine di *Gonocerus acuteangulatus* (n=12) registrate durante i biosaggi in elettroantennografo verso 21 molecole di sintesi. I valori (media \pm errore standard) sono normalizzati rispetto alla risposta a (E)-2-hexenal (controllo positivo). Le risposte contrassegnate con * indicano differenze significative tra maschi e femmine (ANOVA, $P < 0,05$).

Le curve dose-risposta per la miscela “MF” e i tre singoli componenti “1”, “2”, “3” ottenute con le antenne di maschi e di femmine sono illustrate rispettivamente nelle Figure 18 e 19; i relativi dati analizzati statisticamente per i maschi e per le femmine sono riportati rispettivamente nelle Tabelle 6 e 7. Le differenze di concentrazione della sostanza “2” non sono state percepite dalle antenne né dei maschi (ANOVA: gdl = 9,29; $F = 0,993$; $P = 0,467$) né delle femmine (ANOVA: gdl = 9,29; $F = 0,457$; $P = 0,886$), che hanno dato risposte statisticamente non differenti alle diverse dosi (Tabelle 6 e 7). La percezione della concentrazione della miscela è risultata quindi a carico dei componenti “1” e “3”. In particolare, la sostanza “3” è apparsa la principale responsabile della risposta alle diverse diluizioni della miscela, causando risposte nelle antenne sia dei maschi che delle femmine mediamente superiori a quelle determinate dalla miscela.

Tabella 6. Risposte in elettroantennografo di femmine di *Gonocerus acuteangulatus* (n=3) alla miscela MF e ai suoi tre componenti puri e in sette diluizioni in paraffina (da 10^{-1} a 10^{-7}). Le risposte ottenute sono normalizzate rispetto a (E)-2-hexenal impiegato puro. I valori in riga (media \pm errore standard) sono stati analizzati con ANOVA a una via o con test di Kruskal-Wallis quando le varianze non erano omogenee. Valori in riga seguiti dalla stessa lettera non differiscono in modo statisticamente significativo (test di Tukey, $P < 0,05$ o test U di Mann-Whitney, $P < 0,05$).

Stimolo	diluizione																					
	vuoto		paraffina		10 ⁻⁷		10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		10 ⁻⁴		10 ⁻³		10 ⁻²		10 ⁻¹		1		test	sig.
1	0,07	BC	0,11	BC	0,08	BC	0,05	C	0,08	BC	0,10	BC	0,09	BC	0,11	BC	0,19	AB	0,27	A	A+T	**
2	0,11		0,09		0,09		0,12		0,12		0,13		0,12		0,16		0,17		0,15	A	ns	
3	0,06	E	0,09	DE	0,10	DE	0,09	DE	0,12	DE	0,23	DE	0,32	BCD	0,48	ABC	0,71	AB	0,92	A	K+M	**
MF	0,17	CD	0,18	CD	0,16	D	0,13	D	0,13	D	0,17	D	0,26	C	0,39	B	0,70	A	0,86	A	K+M	**

A = ANOVA; T = test di Tukey; K = test di Kruskal-Wallis; M = test U di Mann-Whitney

Tabella 7. Risposte in elettroantennografo di femmine di *Gonocerus acuteangulatus* (n=3) alla miscela MF e ai suoi tre componenti puri e in sette diluizioni in paraffina (da 10^{-1} a 10^{-7}). Le risposte ottenute sono normalizzate rispetto a (E)-2-hexenal impiegato puro. I valori in riga (media \pm errore standard) sono stati analizzati con ANOVA a una via o con test di Kruskal-Wallis quando le varianze non erano omogenee. Valori in riga seguiti dalla stessa lettera non differiscono in modo statisticamente significativo (test di Tukey, $P < 0,05$ o test U di Mann-Whitney, $P < 0,05$).

Stimolo			diluizione																		test	sig.
			vuoto	paraffina	10^{-7}		10^{-6}		10^{-5}		10^{-4}		10^{-3}		10^{-2}		10^{-1}		1			
1	0,14	BC	0,11	C	0,11	C	0,11	C	0,11	C	0,13	BC	0,13	BC	0,16	BC	0,25	AB	0,32	A	A+T	**
	(±0,03)		(±0,02)		(±0,03)		(±0,02)		(±0,02)		(±0,03)		(±0,03)		(±0,02)		(±0,02)		(±0,03)			
2	0,17		0,17		0,18		0,15		0,17		0,18		0,20		0,28		0,31		0,29	A		ns
	(±0,05)		(±0,06)		(±0,06)		(±0,05)		(±0,06)		(±0,06)		(±0,07)		(±0,06)		(±0,07)		(±0,05)			
3	0,15	D	0,12	D	0,17	D	0,15	D	0,16	D	0,25	CD	0,37	CD	0,50	BC	0,76	AB	1,02	A	A+T	**
	(±0,02)		(±0,04)		(±0,04)		(±0,04)		(±0,04)		(±0,05)		(±0,04)		(±0,09)		(±0,11)		(±0,11)			
MF	0,14	D	0,11	D	0,12	D	0,14	D	0,14	D	0,19	CD	0,37	BC	0,53	B	0,79	A	0,85	A	A+T	**
	(±0,03)		(±0,03)		(±0,02)		(±0,03)		(±0,03)		(±0,02)		(±0,05)		(±0,06)		(±0,04)		(±0,04)			

A = ANOVA; T = test di Tukey; K = test di Kruskal-Wallis; M = test U di Mann-Whitney

3.3.4. PROVE IN SEMI-CAMPO

Prova in arboreto. Nelle prove effettuate nel 2011, durante i tre rilievi giornalieri molti maschi sono stati ritrovati sul soffitto della serra, probabilmente a causa dello spazio ridotto e del microclima non favorevole creatosi all'interno; questi individui non sono stati quindi considerati nell'analisi statistica. Inoltre nel corso di tutte le prove molti individui sono stati osservati su una pianta di bosso in particolare, indipendentemente dalla tesi posta nelle vicinanze; questa era la pianta di bosso collocata più a nord, scelta probabilmente per le temperature eccessivamente elevate raggiunte all'interno della serra nel corso dell'estate. Anche gli individui rinvenuti su questa pianta sono stati esclusi dall'analisi statistica.

Considerando i due fattori tesi e orario di osservazione, mediante ANOVA a due vie, nelle prime tre prove (Tabella 5) sono state rilevate differenze statisticamente significative soltanto per la tesi (ANOVA: tesi, gdl = 3,155; $F = 5,948$; $P = 0,001$; orario, gdl = 2,155; $F = 0,058$; $P = 0,944$; tesi \times orario, gdl = 6,155; $F = 0,798$; $P = 0,573$). In particolare, la presenza delle femmine è stata significativamente più attrattiva rispetto alla presenza dei maschi o di maschi e femmine insieme, ma non rispetto al testimone senza insetti (test di Tukey: $P < 0,05$) (Tabella 8).

Anche nelle tre prove successive (Tabella 5) l'orario non ha influito significativamente sul risultato, mentre differenze significative sono state rilevate fra le tesi (ANOVA: tesi, gdl = 2,152; $F = 13,212$; $P = 0,000$; orario, gdl = 2,152; $F = 0,496$; $P = 0,610$; tesi \times orario, gdl = 4,152; $F = 0,842$; $P = 0,501$). Le femmine e l'erogatore con la miscela "MF" sono risultati ugualmente attrattivi per i maschi di *G. acuteangulatus* rilasciati all'interno della gabbia in rete (Tabella 8).

Prova in serra. Durante le prove effettuate nel 2012, gli adulti sia maschi che femmine non si sono distribuiti uniformemente all'interno della gabbia, ma hanno mostrato spesso un'aggregazione, seppur parziale, in alcuni punti. Per quanto riguarda le tesi a confronto, non sempre sono risultate attrattive in modo statisticamente significativo rispetto alle altre posizioni all'interno della gabbia, in particolare:

- le femmine isolate in gabbia sono state attrattive per i maschi una volta (Kruskal Wallis: gdl = 8; $\chi^2 = 24,159$; $P = 0,002$) su tre, mai per le femmine;
- i maschi isolati in gabbia sono risultati attrattivi per le femmine una volta (Kruskal Wallis: gdl = 8; $\chi^2 = 19,333$; $P = 0,001$) su tre (non saggiati con i maschi);
- l'erogatore con la miscela "MF" è risultato attrattivo per i maschi una volta (Kruskal Wallis: gdl = 8; $\chi^2 = 28,800$; $P = 0,000$) su tre, mai per le femmine.

I risultati ottenuti in queste tre prove non hanno quindi confermato l'attrattività della miscela selezionata nei confronti degli adulti di *G. acuteangulatus* né maschi né femmine, ma neppure l'attrattività delle femmine verso né maschi né femmine conspecifici.

Tabella 8. Percentuale, trasformata in arcoseno della radice quadrata (media \pm ES), di adulti rinvenuti sui bossi vicini alle tesi a confronto nelle prove nell'estate 2011, analizzati con ANOVA a due vie (i dati relativi al fattore "orario" non sono riportati). Valori seguiti da lettere uguali non differiscono in modo statisticamente significativo (test di Tukey, $P < 0,05$).

Tesi	primo gruppo di prove		secondo gruppo di prove	
testimone	0,52 \pm 0,04	ab	0,30 \pm 0,04	b
20 femmine	0,61 \pm 0,06	a	0,56 \pm 0,05	a
20 maschi	0,39 \pm 0,03	b		
10 femmine e 10 maschi	0,40 \pm 0,04	b		
MF			0,52 \pm 0,04	a

3.3.5. PROVE IN CAMPO

Nelle Tabelle 9, 10, 11, 12 e 13 è riportato il numero di eterotteri rinvenuti nei vari siti durante il periodo di esposizione degli erogatori; le piante su cui questi erano posizionati sono contrassegnate con le sigle "C" (erogatore in caucciù) e "P" (erogatore in polietilene), seguite da 0,1, 1, 10 che indicano le rispettive dosi caricate (0,1 mg, 1 mg, 10 mg), mentre le piante testimone, senza erogatori, sono contrassegnate con la sigla "T". Sia su nocciolo, mediante scuotimento delle branche e della chioma, sia su bosso, mediante controlli visivi e scuotimento delle piante, è stato sempre rinvenuto un numero esiguo di individui di *G. acuteangulatus* in tutti i siti indagati (Tabelle 9, 10, 11, 12 e 13), pertanto i dati non sono stati analizzati statisticamente.

Nel corso del monitoraggio, oltre a *G. acuteangulatus*, sono state rilevate anche altre specie di eterotteri potenzialmente dannose per il nocciolo. Fra queste, *P. prasina* L. è stata la più abbondante (Tabelle 9, 10, 11, 12 e 13); le altre specie, quali *Raphigaster nebulosa* (Poda), *N. viridula*, *Dolycorum baccarum* (L.) e *Coreus marginatus* (L.) sono state catturate con frequenza occasionale (pertanto nelle Tabelle 9, 10, 11, 12 e 13 sono riportate nella colonna “altro”).

Tabella 9 . Numero totale di individui di *Gonocerus acuteangulatus*, *Palomena prasina* e altre specie (altro) rilevato nel corileto di Bibiana (TO) su piante con erogatori in caucciù (C) e polietilene (P) con varie dosi di miscela (0,1 mg 1 mg, 10 mg) e senza erogatori (T) nell'estate 2011.

Tesi	<i>G. acuteangulatus</i>		<i>P. prasina</i>		altro
	adulti	giovani	adulti	giovani	
C 0,1/C10		1	1		1
C 1		1	2	2	3
C 10		2	5	2	1
P 0,1/G10	2	1	5		
P 1/C10		1	5	2	
P 10			2	3	3
T 1		1		1	1
T 2		2			

Tabella 10. Numero totale di individui di *Gonocerus acuteangulatus*, *Palomena prasina* e altre specie (altro) rilevato nel corileto di Andezeno (TO) su piante con erogatori in caucciù (C) e polietilene (P) con varie dosi di miscela (0,1 mg, 1 mg, 10 mg) e senza erogatori (T) nell'estate 2011.

Tesi	<i>G. acuteangulatus</i>		<i>P. prasina</i>		altro
	adulti	giovani	adulti	giovani	
C 0,1/C10					
C 1				1	
C 10		1	4	1	6
P 0,1/C10					
P 1			1		1
P 10		1	2		
T 1			1		
T 2			1	1	2

In nessun sito sono state effettuate catture di *G. acuteangulatus* o di altre specie con le diverse tipologie di trappola utilizzate: né incollati sulle trappole

cromotattiche adesive, né all'interno delle bottiglie appositamente realizzate (Figura 12).

Tabella 11. Numero totale di individui di *Gonocerus acuteangulatus*, *Palomena prasina* e altre specie (altro) rilevato nel corileto di Cissone (CN) su piante con erogatori in caucciù (C) e polietilene (P) con varie dosi di miscela (0,1 mg, 1 mg, 10 mg) e senza erogatori (T) nell'estate 2011.

Tesi	<i>G. acuteangulatus</i>		<i>P. prasina</i>		altro
	adulti	giovani	adulti	giovani	
C 0,1/C10		2			
C 1					
C 10			2		
P 0,1/C10	1				
P 1			2		
P 10		1			
T 1					
T 2	1	2			

Tabella 12. Numero totale di individui di *Gonocerus acuteangulatus*, *Palomena prasina* e altre specie (altro) rilevato nel corileto di Magliano Alfieri (CN) su piante con erogatori in caucciù (C) e polietilene (P) con varie dosi di miscela (0,1 mg, 1 mg, 10 mg) e senza erogatori (T) nell'estate 2011.

Tesi	<i>G. acuteangulatus</i>		<i>P. prasina</i>		altro
	adulti	giovani	adulti	giovani	
C 0,1/C10	1		3	1	
C 1		2	1		
C 10			3		
P 0,1/C10					
P 1	2		2		1
P 10			2		
T 1	1	2			
T 2		1	2		

Tabella 13. Numero totale di individui di *Gonocerus acuteangulatus*, *Palomena prasina* e altre specie (altro) rilevato sui bossi nel parco di Racconigi (CN) su piante con erogatori in caucciù (C) e polietilene (P) con varie dosi di miscela (0,1 mg, 1 mg, 10 mg) e senza erogatori (T) nell'estate 2011.

Tesi	<i>G. acuteangulatus</i>		<i>P. prasina</i>		altro
	adulti	giovani	adulti	giovani	
C 0,1/C10		2			
C 1	3	4			
C 10					
P 0,1/C10					
P 1				2	
P 10					
T 1	7	1			
T 2	6	3			

3.4. DISCUSSIONE

Per quanto riguarda i metodi di estrazione dei volatili, l'immersione di adulti in solventi, fra cui il diclorometano ha fornito i risultati migliori, ha permesso l'identificazione di molte molecole prodotte da *G. acuteangulatus* che, come già noto per altri eterotteri (Millar, 2005), rappresentano soprattutto feromoni di allarme o sostanze di difesa repellenti o tossiche per i predatori. Per il riconoscimento dei feromoni attrattivi, il metodo con flusso d'aria, sebbene tra i più utilizzati (McBrien e Millar 1999; Millar, 2005), nelle condizioni sperimentali si è dimostrato inefficace. Le cause possono essere varie, da un sovradimensionamento della struttura, che potrebbe aver disperso eccessivamente i volatili nel flusso d'aria, a un sovraffollamento di insetti all'interno dei cilindri, che potrebbe aver inibito la produzione di feromoni attrattivi (Brézot *et al.*, 1994), oppure ancora a un metodo di cattura dei volatili (la trappola criogenica) inadatto. Di conseguenza, il metodo migliore per l'identificazione dei volatili prodotti da *G. acuteangulatus* in condizioni di quiete è risultato essere l'esposizione della fibra SPME nello spazio di testa statico di una provetta contenente un gruppo di adulti. Nel corso di successive indagini potrebbe tuttavia essere interessante migliorare ulteriormente il metodo, modificando il numero di adulti in rapporto al volume interessato per diminuire eventuali effetti di inibizione, o il tempo di esposizione della fibra, poiché l'emissione di feromoni potrebbe non essere costante nel tempo, fornendo così medie orarie fuorvianti (Millar, 2005).

Fra i metodi di biosaggio comportamentale l'olfattometro ha fornito risultati non sempre soddisfacenti: il numero di adulti che non hanno effettuato una scelta è stato infatti spesso elevato. Anche se i maschi di *G. acuteangulatus* hanno mostrato, se attratti, di poter volare agevolmente all'interno dell'olfattometro se attratti, l'impiego di adulti come fonte odorosa probabilmente ha reso il metodo non sempre attendibile. L'emissione di feromoni da parte degli adulti potrebbe infatti non essere costante, e gli eterotteri sono inoltre molto sensibili alle condizioni non naturali di laboratorio (McBrien e Millar, 1999). Risulta quindi estremamente difficile la realizzazione di ripetizioni perfettamente confrontabili. Tuttavia anche utilizzando le molecole di sintesi un elevato numero di adulti non ha completato il percorso all'interno dell'olfattometro. Questo comportamento potrebbe essere conseguenza non soltanto di una formulazione non corretta della miscela attrattiva ma anche di una elevata sensibilità dell'antenna di *G. acuteangulatus*. Infatti una concentrazione eccessiva dei volatili attrattivi potrebbe aver saturato le antenne degli adulti che, confusi, non hanno più sentito la necessità di proseguire in direzione della fonte odorosa. L'estrema volatilità, stabilità e persistenza nell'ambiente delle molecole potrebbero aver reso inquinata la stanza ove sono stati condotti i biosaggi. Ulteriori indagini saranno necessarie per migliorare il metodo, modificando anche in questo caso i volumi, sia della camera di scelta che delle camere degli odori.

Le prove di semi-campo, in ambienti meno confinati, hanno risentito in modo minore delle difficoltà di dimensionamento, mostrandosi più adatte alla specie, che necessita di ampia libertà di movimento. Tuttavia anche in questo caso i risultati ottenuti sono stati a volte contrastanti, impiegando come fonte odorosa sia gli adulti (feromoni naturali), sia gli erogatori con la miscela di sintesi. Oltre all'idonea condizione in cui devono trovarsi gli adulti impiegati nei biosaggi (Millar, 2005) e alla corretta formulazione della miscela attrattiva, in futuri biosaggi andrà in ogni caso posta molta attenzione al microclima che si crea all'interno delle gabbie utilizzate e all'illuminazione, fattori che hanno influenzato sensibilmente il comportamento e la distribuzione degli adulti dell'eterottero.

Per quanto riguarda le prove di campo, in questo caso la difficoltà maggiore è stata rappresentata dalla popolazione di *G. acuteangulatus* troppo esigua per permettere valutazioni significative sulla sua distribuzione. Sebbene sia noto che

su nocciolo il coreide non è mai presente con popolazioni abbondanti (Boselli 1932), anche su bosso, a causa della stagione ormai troppo avanzata, gli adulti sono stati catturati sempre in quantità basse. Per ovviare in futuro sarà sicuramente necessario disporre e collocare gli erogatori in campo in anticipo.

I biosaggi fisiologici con elettroantennografo, utilizzati qui per la prima volta sulla specie, hanno consentito infine una valutazione oggettiva della percezione delle molecole, singole o in miscela, da parte degli adulti di *G. acuteangulatus* attraverso i sensilli antennali, pur non fornendo informazioni sulle risposte comportamentali. Due componenti della miscela in particolare hanno determinato nelle antenne una risposta relativamente bassa, mentre il restante componente ha suscitato, da solo, una risposta più elevata rispetto a quella ottenuta con la miscela. Questo suggerisce la necessità di rivalutare la composizione del bouquet feromonale, sebbene nei biosaggi in condizioni controllate la miscela selezionata sia risultata parzialmente dotata di attività attrattiva, pur non costante nel tempo (es. solo il primo giorno in olfattometro). Anche i metodi di captazione più efficaci possono infatti risentire dello stato fisiologico in cui si trovano gli insetti, molto sensibili alle condizioni non naturali di laboratorio (McBrien e Millar, 1999).

In conclusione, anche se i risultati ottenuti sono ancora preliminari e dovranno essere ulteriormente confermati, le femmine di *G. acuteangulatus* sembrano responsabili della produzione di feromoni di aggregazione attivi sia nei confronti dei maschi che delle femmine. Nonostante all'interno della superfamiglia Coreoidea siano generalmente i maschi ad essere responsabili dell'emissione di feromoni attrattivi, in alcune specie appartenenti alla famiglia Coreidae sono le femmine a possedere ghiandole specifiche per la produzione di feromoni (Pavis, 1987); *G. acuteangulatus* potrebbe essere una di queste specie.

CAPITOLO IV.

4. STUDIO DEI SEMIOCHIMICI INTER-SPECIFICI

4.1. PREMESSA

Da tempo, durante numerosi sopralluoghi in campo, era stata osservata la presenza di popolazioni cospicue di *G. acuteangulatus* aggregate su singole piante di essenze arbustive spontanee. Oltre al nocciolo, sono infatti note varie piante ospiti del coreide appartenenti alle famiglie Anacardiaceae (*Arbutus* spp., *Pistacia vera* L.), Buxaceae (*Buxus sempervirens* L., *Buxus* spp.), Cupressaceae (*Juniperus* spp.), Ebanaceae (*Diospyros kaki* L.), Fagaceae (*Quercus* spp.), Rhamnaceae [*Frangula* spp., *Rhamnus cathartica* (L.), *Rhamnus frangulae* L., *Rhamnus* spp.], Rosaceae [*Eriobotrya japonica* (Thunb.), *Pirus malus* L., *Prunus persica* (L.), *Prunus* spp., *Rosa canina* L., *Rosa* spp., *Rubus idaeus* L., *R. fruticosus* L.], Taxaceae (*Taxus* spp.) (Genduso e Mineo, 1974b; Moulet, 1995). Inoltre adulti, seppur non in attività trofica, sono stati osservati su altre piante come fico, ferula, gelso e castagno, così come sono state rinvenute uova su arancio e gelso bianco (Genduso e Mineo, 1974b). Tuttavia, sebbene ampie osservazioni siano state effettuate su nocciolo (Boselli, 1932), le conoscenze sul comportamento di *G. acuteangulatus* in ambienti naturali sono ancora molto limitate. È stata in passato rilevata la migrazione del coreide da piante di *Prunus* spp., che fruttificano in primavera, ai corileti nel mese di maggio (Genduso e Mineo, 1974b), ma non è mai stata indagata l'influenza della presenza nell'ambiente di piante ospiti che fruttifichino contemporaneamente al nocciolo.

A seguito del rinvenimento di abbondanti popolazioni di *G. acuteangulatus* su vegetazione spontanea anche in prossimità di corileti è apparso necessario l'approfondimento delle conoscenze sulla bioetologia del fitofago, in particolare sull'esistenza di preferenze relative alle piante ospiti e sulla loro possibile attività di richiamo al di fuori del corileto. A tale scopo sono stati effettuati periodici sopralluoghi in pieno campo al fine di studiare bioetologia e distribuzione di *G. acuteangulatus* sulle essenze spontanee, con particolare riguardo ai fenomeni di aggregazione. È stata inoltre analizzata l'influenza della presenza di una pianta ospite spontanea all'interno di un corileto sull'incidenza del cimiciato.

4.2. MATERIALI E METODI

4.2.1. RILIEVO DELLE PIANTE OSPITI

Nei tre anni di ricerca, dal mese di aprile al mese di ottobre, sono stati effettuati sopralluoghi in campo per rilevare la presenza di *G. acuteangulatus* su alcune piante ospiti note, come *B. sempervirens*, *Frangula* spp., *R. cathartica* e *Rosa* spp. (Moulet, 1995), e altre non riportate in letteratura. Sono stati indagati siti in varie aree piemontesi (Figura 18 e Tabella 14), in ambienti sia coltivati che naturali, tutti caratterizzati dalla presenza di abbondante vegetazione arbustiva spontanea.

Tabella 14. Siti di indagine della presenza di *Gonocerus acuteangulatus* in Piemonte nel triennio 2010-2012.

N.	località	ambiente
1	Villar Dora (TO), regione Torre del Colle (45°6'30.41"N, 7°22'20.78"E, 381m s.l.m.)	ambiente naturale con presenza di bosco e pascoli
2	Bricherasio (TO), regione S. Michele (44°50'24.35"N, 7°16'13.93"E, 558 m s.l.m.)	ambiente boschivo naturale
3	Carpeneto (AL) (44°40'49.23"N, 8°37'8.23"E, 301 m s.l.m.)	vegetazione spontanea nelle vicinanze di vigneti coltivati
4	Castelferro (AL) (44°45'53.72"N, 8°37'28.92"E, 150 m s.l.m.)	vegetazione spontanea nelle vicinanze di vigneti coltivati
5	Racconigi (TO) (44°47'12.19"N, 7°40'13.40"E, 254 m s.l.m.)	boschetto di bossi all'interno del Parco del Castello
6	Torino, area Le Vallere (45°0'37.41"N, 7°40'16.78"E, 217 m s.l.m.)	piante di bosso in prossimità del parco fluviale del Po
7	Piossasco (TO) (44°58'24.79"N, 7°26'16.68"E, 278 m s.l.m.)	vegetazione spontanea nelle vicinanze di seminativi
8	Pino Torinese (TO) (45°3'21.45"N, 7°46'22.93"E, 512 m s.l.m.)	vegetazione spontanea nel parco naturale della collina di Superga
9	Scurzolengo (AT) (44°58'17.24"N, 8°16'3.16"E, 217 m s.l.m.)	vegetazione spontanea nelle vicinanze di vigneti coltivati
10	Bosia (CN) (44°35'42.57"N, 8°9'22.97"E, 673m s.l.m.)	ambiente boschivo naturale

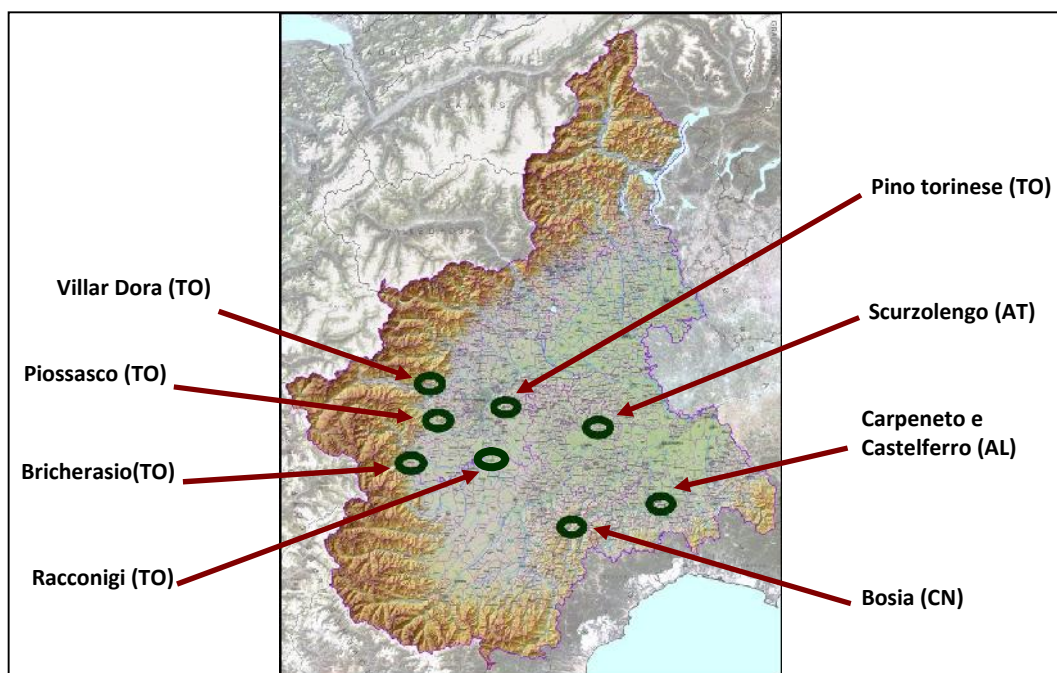


Figura 18. Mappa del Piemonte con i siti di indagine delle popolazioni di *Gonocerus acuteangulatus* nel triennio 2010-2012.

Durante i sopralluoghi gli esemplari di *G. acuteangulatus*, sia adulti che neanidi e ninfe, venivano prima individuati, poi singolarmente catturati in provette di plastica (lunghezza 100 mm, Ø 26 mm). Gli insetti così raccolti venivano conteggiati e trasferiti in contenitori di plastica (capacità 3 l) con aperture sui lati chiuse con rete. All'interno del contenitore gli individui erano approvvigionati con frutti e porzioni della pianta su cui erano stati raccolti e con un batuffolo di cotone imbevuto di acqua per mantenere l'umidità. Tutti gli individui catturati venivano poi trasferiti e mantenuti negli allevamenti allestiti presso i laboratori del DIVAPRA Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente dell'Università degli Studi di Torino.

4.2.2. PROVA IN CAMPO

Nel 2011, su segnalazione dell'assistenza tecnica operante sul territorio, è stato individuato un corileto di 18 ha circa nel comune di Masio (AL), al cui centro era presente un cespuglio di *Cornus sanguinea* L. (Cornaceae) su cui erano stati osservati in precedenza numerosi individui di *G. acuteangulatus*. Da giugno ad agosto è stata monitorata periodicamente la presenza del coreide sull'arbusto mediante indagine visiva e nell'appezzamento mediante scuotimento delle chiome di nocciolo su telo. Per lo scuotimento, effettuato nell'orario tra le 5:00 e le 6:00

del mattino, tre branche pianta⁻¹ su 10 piante nel corileto sono state scosse sopra un telo di nylon (2 × 3 m) posto a terra; gli individui di *G. acuteangulatus* caduti sul telo sono stati conteggiati. Per verificare l'influenza della presenza di *C. sanguinea* sull'attività del fitofago sul nocciolo, alla raccolta sono stati prelevati nell'appezzamento campioni di nocciole a 50, 100, 150 e 300 m dall'arbusto. In ogni punto sono stati raccolti tre campioni di 50 nocciole, inseriti separatamente in sacchetti di carta e trasferiti in laboratorio. Qui le nocciole sono state sgusciate e sezionate in quattro parti per verificare la presenza di alterazioni a carico del seme causate da punture di nutrizione. Le percentuali di cimiciato sul numero totale di nocciole osservate, esclusi i frutti vuoti, sono state prima trasformate in arcoseno della radice quadrata, poiché il numero di nocciole non era costante, e analizzate, dopo averne accertato l'omogeneità (test di Levene) e la normalità (test di Shapiro-Wilk), con ANOVA a una via, e successivamente le medie sono state separate con il test di Tukey utilizzando il software SPSS versione 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

4.3. RISULTATI

4.3.1. RILIEVO DELLE PIANTE OSPITI

Durante i tre anni di ricerca, popolazioni di *G. acuteangulatus* sono state rinvenute su varie specie arbustive presenti in aree incolte e/o boschive distribuite sul territorio piemontese. In particolare, il coreide è stato osservato in quantità elevate su alcuni degli ospiti già noti in letteratura, quali il bosso *B. sempervirens*, la frangola *F. alnus* Miller, lo spino cervino *R. cathartica*, rosacee del genere *Rosa*, il ciliegio di Santa Lucia *Prunus mahaleb* L. e altri *Prunus* spp., (Genduso e Mineo, 1974b; Moulet, 1995). Inoltre è stato rilevato anche su essenze non ancora riportate, appartenenti alle famiglie Rosaceae, come il biancospino *Crataegus monogyna* Jacq., e Cornaceae, come il corniolo *Cornus mas* L. e il sanguinello *C. sanguinea* (Figura 19 e Tabella 15).

La presenza del coreide sulle specie arbustive sopra riportate non è stata tuttavia costante nel tempo. Nel periodo primaverile-autunnale *G. acuteangulatus* migrava in grandi quantità sulle varie piante ospiti in corrispondenza della comparsa dei primi frutti e vi permaneva durante tutto il periodo della maturazione per allontanarsi poco prima della senescenza. In particolare, nel

corso della stagione il fitofago è stato rinvenuto in abbondanza da aprile a giugno su *P. mahaleb*, in maggio-giugno su *B. sempervirens*, da giugno ad agosto su *R. cathartica* e *C. sanguinea*, da giugno a settembre su *F. alnus*. Sulle specie vegetali che mantenevano i frutti per tempi più lunghi, come le specie selvatiche di *Rosa*, l'insetto è stato rilevato durante tutto il periodo, con catture abbondanti fino al mese di ottobre, soprattutto in quei siti in cui non erano presenti altre piante ospiti. Sulle altre specie *G. acuteangulatus* è stato rinvenuto con popolazioni meno numerose, ad esempio su *C. monogyna* da maggio ad agosto, o soltanto occasionalmente, come su *Prunus* spp. e su *C. mas* (Tabella 15).

In condizioni di presenza contemporanea di frutti su specie diverse in uno stesso sito, l'insetto ha mostrato, con la sua distribuzione, preferenza per alcune essenze rispetto ad altre, e all'interno della stessa specie, per le piante più rigogliose e con fruttificazione più abbondante. In particolare sia a Villar Dora che a Carpeneto, in giugno e luglio centinaia di adulti sono stati rinvenuti su un'unica pianta di *R. cathartica*, mentre soltanto poche decine di adulti sono stati osservati sulle piante circostanti di *C. monogyna* e *C. sanguinea*, anche se tutte e tre le specie mostravano frutti in maturazione. Nei siti di Racconigi e Torino in cui erano presenti piante di *B. sempervirens*, il maggior numero di individui è stato rinvenuto su questa specie, nonostante fossero presenti piante di *C. sanguinea* e *C. monogyna* con frutti contemporaneamente in maturazione. Nei siti in cui non erano presenti piante di bosso o di spinocervino, come a Scurzolengo e Pino Torinese, centinaia di individui sono stati osservati invece su *C. sanguinea*. Complessivamente, sono stati catturati più di 1000 individui di *G. acuteangulatus* ogni anno.

4.3.2. PROVA IN CAMPO

Durante i sopralluoghi nel corileto di Masio nel 2011, sul cespuglio di *C. sanguinea* è stata rilevata la presenza di una popolazione consistente del coreide (almeno 30 individui rilevati in ciascun sopralluogo), mentre sulle piante di nocciolo non è mai stata raggiunta la soglia di intervento prevista dalle norme tecniche di produzione integrata della Regione Piemonte, equivalente a 2 individui pianta⁻¹. Il fitofago ha mostrato quindi un'evidente preferenza per il sanguinello rispetto al nocciolo.

L'analisi dei semi alla raccolta ha inoltre messo in evidenza come la presenza del cespuglio influisse significativamente sull'incidenza di cimiciato nell'appezzamento (Tabella 16). Le piante di nocciolo adiacenti a *C. sanguinea* presentavano una percentuale di cimiciato molto elevata (11,5% in media), mentre le piante a una distanza di 50 m non erano interessate dall'attacco, infatti nei campioni non sono stati trovati semi danneggiati. Piante a distanze via via maggiori, da 100 m a 300 m, mostravano danni intermedi. Il sanguinello ha quindi contenuto molto efficacemente il danno sulle piante a 50 m di distanza.

Tabella 15. Specie vegetali, con relativo periodo, su cui sono stati rinvenuti individui di *Gonocerus acuteangulatus* nei siti indagati nel triennio 2010-2012 (riportati in Tabella 14).

147).

Specie	periodo	siti indagati									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
famiglia Buxaceae											
<i>Buxus sempervirens.</i>	maggio-giugno					X	X				
famiglia Rhamnaceae											
<i>Frangula alnus</i>	giugno-settembre			X							
<i>Rhamnus cathartica</i>	giugno-agosto	X		X							
famiglia Rosaceae											
<i>Rosa</i> spp.	giugno-ottobre			X	X			X			X
<i>Crataegus monogyna.</i>	maggio-agosto	X		X		X	X				X
<i>Prunus mahaleb</i>	aprile-giugno	X									
<i>Prunus</i> spp.	occasionale			X							
famiglia Cornaceae											
<i>Cornus mas</i>	occasionale	X									
<i>C. sanguinea</i>	giugno-agosto	X		X		X	X	X	X	X	

Tabella 16. Percentuale (media \pm ES) di nocciole cimiciate nei campioni raccolti a diversa distanza dal cespuglio di sanguinello nel corileto a Masio (AL) nel 2011.

Distanza da <i>Cornus sanguinea</i> (m)	cimiciato (%)
0	11,47 \pm 3,29 a
50	0,00 \pm 0,00 b
100	3,97 \pm 2,31 ab
150	2,84 \pm 0,85 ab
300	6,00 \pm 2,17 a



Figura 19. Adulti e ninfe di *Gonocerus acuteangulatus* su *Rosa* spp. (a), *Crataegus monogyna* (b), *Cornus sanguinea* (c), *Rhamnus cathartica* (d), *Prunus mahaleb* (e), *Prunus* spp. (f).

4.4. DISCUSSIONE

Nel corso dei sopralluoghi in campo condotti nel triennio è stato confermato lo spostamento di *G. acuteangulatus* sulle diverse piante ospiti in corrispondenza dell'allegagione, come già osservato in passato in Sicilia (Boselli, 1932; Genduso e Mineo, 1974b). L'elevato numero di individui rinvenuti su poche piante di essenze spontanee contrasta con le popolazioni esigue del fitofago rinvenute da sempre in corileto (Boselli, 1932; Paparatti, 2006, Guidone, 2007), lasciando

supporre che il nocciolo non sia uno degli ospiti di elezione della specie. La presenza di un cespuglio di *C. sanguinea* ha in effetti influenzato significativamente la popolazione di *G. acuteangulatus* presente in corileto, in termini sia di individui rinvenuti sia di entità di cimiciato sulle nocciole, similmente a quanto osservato in un impianto di cachi attaccato dal pentatomide *Plautia stali* Scott dopo l'esposizione di piante di melanzana innescate con il feromone attrattivo (Yamanaka *et al.*, 2011). Occorrerà tuttavia ripetere le indagini, con un monitoraggio costante del coreide durante tutta la stagione vegetativa del nocciolo, per confermare l'attrattività di piante ospiti più gradite e la loro efficacia nel contenere il danno causato dalle cimici sul nocciolo e stabilirne in modo più preciso il raggio d'azione.

Gli spostamenti di *G. acuteangulatus* sulle varie specie vegetali, condizionati dalla presenza di frutti in maturazione e dallo stato fisiologico della pianta, sono probabilmente mediati oltre che dalla vista e dal gusto, anche dall'emissione da parte delle piante di semiochimici attrattivi, come è già stato osservato per *C. marginatus* e per *L. phyllopus* (Aldrich *et al.*, 1993; Pekár e Hrušková, 2006). In studi futuri potranno essere effettuate captazioni in pieno campo dei volatili emessi dalle essenze ospiti in stadio fenologico attrattivo, con metodi idonei all'identificazione delle molecole (Piesik *et al.*, 2012). Questi semiochimici potranno essere utilizzati, anche in combinazione con i feromoni del coreide in caso di effetto sinergico (Reddy e Guerrero, 2004), per attrarre il fitofago all'esterno del corileto riducendo, o addirittura eliminando, l'impiego di trattamenti insetticidi.

CAPITOLO V.

5. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La ricerca svolta nel triennio ha contribuito a migliorare le conoscenze sulla bioetologia di *G. acuteangulatus*. Innanzitutto è stata accertata la preferenza della specie per alcune essenze largamente distribuite sul territorio, rispetto al nocciolo. Questo aspetto, se adeguatamente sostenuto da ulteriori studi, potrà essere utilmente applicato nell'impostazione di una strategia di difesa del corileto, a basso impatto ambientale. Sfruttando infatti l'attrattività di alcune specie vegetali nei confronti di *G. acuteangulatus* potrà essere ridotta la superficie sulla quale effettuare eventuali trattamenti insetticidi, che potrebbero addirittura divenire superflui per la protezione della coltura e di conseguenza per la salvaguardia della produzione corilicola. Stessa funzione potrà essere svolta dagli analoghi di sintesi dei volatili emessi dalle piante responsabili dell'attrazione, eventualmente identificati in studi futuri. Inoltre questi analoghi di sintesi potranno essere utilizzati insieme con gli eventuali feromoni attrattivi emessi dell'eterottero, con un'azione sinergica in grado di mantenere a lungo il fitofago lontano dalla coltura.

Per quanto riguarda lo studio dei feromoni, nel triennio sono stati applicati, con non poche difficoltà, metodi di indagine nuovi per la specie. L'elevata mobilità nell'ambiente infatti rende *G. acuteangulatus* poco adatto ai biosaggi comportamentali in condizioni non naturali come quelle dell'olfattometro. Anche in ambienti più ampi tuttavia il coreide ha mostrato di essere molto sensibile alle alterazioni microclimatiche. Pertanto, per confermare l'apparente produzione da parte delle femmine di feromoni di aggregazione, sarà necessario rendere le condizioni di saggio il più possibile idonee alle caratteristiche etologiche della specie, ad esempio valutando l'impiego del tunnel del vento per i biosaggi comportamentali. Allo stesso modo dovranno essere migliorate le condizioni di estrazione dei volatili emessi dagli adulti, fortemente influenzata dalle condizioni ambientali. La miscela feromonale selezionata durante le ricerche ha mostrato un'azione attrattiva, ma soltanto in alcuni casi, e con elevate difficoltà di ripetibilità dei risultati ottenuti. Tutte le analisi e i biosaggi eseguiti nei tre anni di ricerca hanno quindi necessità di essere ulteriormente ripetuti per convalidare i risultati preliminari conseguiti finora.

Anche la miglior conoscenza del comportamento alimentare di *G. acuteangulatus* su nocciolo, che ha confermato l'impossibilità di prevedere l'entità del danno in base alla numerosità di individui presenti sulla coltura, potrebbe essere utilmente sfruttata nella realizzazione di una nuova strategia di difesa. In particolare, ulteriori studi su caratteristiche e attività degli enzimi salivari che intervengono nell'alterazione dei tessuti dei semi potrebbero portare alla conoscenza di meccanismi in grado di proteggere la coltura dal danno. In quest'ottica particolare attenzione andrà posta nello studio di quegli individui che non sono stati in grado di causare alterazioni nonostante il loro confinamento in isolatori con pochi semi a disposizione per gran parte del periodo di suscettibilità delle nocciole.

BIBLIOGRAFIA

Adachi, I., Uchino, K., Mochizuki, F., 2007. Development of a pyramidal trap for monitoring fruit-piercing stink bugs baited with *Plautia crossota stali* (Hemiptera: Pentatomidae) aggregation pheromone. *Applied Entomology and Zoology*, 42 (3): 425-431.

Aldrich, J.R., Yonke, T.R., 1975. Natural products of abdominal and metathoracic scent glands of coreoid bugs. *Annals of the Entomological Society of America*, 68: 955-960.

Aldrich, J.R., Blum, M.S., Duffey, S.S., 1976. Male specific natural products in the bug, *Leptoglossus phyllopus*: chemistry and possible function. *Journal of Insect Physiology*, 22 (9): 1201-1206.

Aldrich, J.R., Kochansky, J.P., Lusby, W.R., Dutky, S.R., 1982. Volatile male-specific natural products of a coreid bug (Hemiptera: Heteroptera). *Journal of Chemical Ecology*, 8: 1369-1376.

Aldrich, J.R., Oliver, J.E., Lusby, W.R., Kochansky, J.P., Lockwood, J.A., 1987. Pheromone strains of the cosmopolitan pest, *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Experimental Zoology*, 244 (1): 171-175.

Aldrich, J.R., 1988. Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual Review of Entomology*, 33: 211-238.

Aldrich, J.R., Waite, G.K., Moore, C., Payne, J.A., Lusby, W.R., Kochansky, J.P., 1993. Male-specific volatiles from Nearctic and Australasian true bugs (Heteroptera: Coreidae and Alydidae). *Journal of Chemical Ecology*, 19: 2767-2781.

Aldrich, J.R., Khrimian, A., Chen, X., Camp, M.J., 2009. Semiochemically based monitoring of the invasion of the brown marmorated stink bug and unexpected attraction of the native green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) in Maryland. *Florida Entomologist*, 92 (3): 483-491.

AliNiazee, M.T., 1998. Ecology and management of hazelnut pests. *Annual Review of Entomology*, 43: 395-419.

- Birch, M.C., Haynes, K.F., 1984. Introduzione ai feromoni. Clesav Ricerche Milano, pp. 95.
- Blatt, S.E., Borden, J.H., 1996. Evidence for a male-produced aggregation pheromone in the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae). *The Canadian Entomologist*, 128 (04): 777-778.
- Blatt, S.E., Borden, J.H., Pierce, H.D., Gries, R., Gries, G., 1998. Alarm pheromone system of the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 24 (6): 1013-1031.
- Borges, M., Schmidt, F.G.V., Sujii, E.R., Medeiros, M.A., Mori, K., Zarbin, P.H.G., Ferreira, J.T.B., 1998. Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). *Physiological Entomology*, 23 (3): 202-207.
- Boselli, F., 1932. Studio biologico degli Emitteri che attaccano le Nocciuole in Sicilia. *Bollettino del Laboratorio di Zoologia Generale e Agraria di Portici*, 26: 1-309.
- Brézot, P., Malosse, C., Mori, K., Renou, M., 1994. Bisabolene epoxides in sex pheromone in *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae): Role of *cis* isomer and relation to specificity of pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 3133-3147.
- Bruce, T.J.A., Pickett, J.A., 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. *Phytochemistry*, 72: 1605-1611.
- Burgio, G., Genduso, P., Mineo, G., 1982. Difesa del nocciolo dagli artropodi dannosi. XV. Influenza della temperatura sull'ovideposizione e sulla durata della vita di *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze) (Rhynchota, Heteroptera, Coreidae). *Redia*, 65: 259-284.
- Celli, G., Maini, S., 1988. Lotta biologica integrata in agricoltura. CESTAAT, Ministero Agricoltura e Foreste, S.E.P.E., Roma, pp.196.
- Chassagne, D., Crouzet, J., 1998. Acyanogenic glycoside from *Passiflora edulis* fruits. *Phytochemistry*, 49: 757-759.
- Colazza, S., McElfresh, J.S., Millar, J.G., 2004. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that

attract the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 30 (5): 945-964.

Cook, S.M., Khan, Z.R., Pickett, J.A., 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*, 52: 375-400.

Cottrell, T.E., 2001. Improved trap capture of *Euschistus servus* and *Euschistus tristigmus* (Hemiptera: Pentatomidae) in pecan orchards. *The Florida Entomologist*, 84: 731-732.

Cullen, E.M., Zalom, F.G., 2005. Relationship between *Euschistus conspersus* (Hem., Pentatomidae) pheromone trap catch and canopy samples in processing tomatoes. *Journal of Applied Entomology*, 129, (9-10): 505-514.

Cullen, E.M., Zalom, F.G., 2006. *Euschistus conspersus* female morphology and attraction to methyl (2E,4Z)-decadienoate pheromone-baited traps in processing tomatoes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119 (2): 163-173.

Dicke, M., Sabelis, M.W., 1988. Terminology of chemicals involved in interactions between individual organisms. Should it be based on cost-benefit analysis rather than on origin of compounds? *Functional Ecology*, 2: 131-139.

Dicke, M., van Loon, J.J.A., 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 237-249.

Dicke, M., 2009. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant, Cell and Environment*, 32: 654-665.

Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A., Orlova, I., 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25: 417-440.

Elliot, S.L., Sabelis, M.W., Janssen, A., van der Geest, L.P.S., Beerling, E.A.M., Fransen, J., 2000. Can plants use entomopathogens as bodyguards? *Ecology Letters*, 3: 228-235.

FAOSTAT, 2011. <http://www.faostat.fao.org>.

Fiori, M., Loru, L., Marras, P.M., Viridis, S., 2006. Le principali avversità del nocciolo in Sardegna. *Petria*, 16 (1): 71-88.

- Fucarino A., Millar, J.G., McElfresh, J.S., Colazza, S., 2004. Chemical and physical signals mediating conspecific and heterospecific aggregation behavior of first instar stink bugs. *Journal of Chemical Ecology*, 30: 1257-1269.
- Fukatsu, T., Watanabe, T., Hu, H., Yoichi, H., Hirafuji, M., 2012. Field monitoring support system for the occurrence of *Leptocorisa chinensis* Dallas (Hemiptera: Alydidae) using synthetic attractants, Field Servers, and image analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*, 80: 8-16.
- Genduso, P., Mineo, G., 1972. Difesa del Nocciolo dagli artropodi dannosi. I. Possibilità di allevamento permanente in laboratorio del *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze) (Rhynchota-Heteroptera-Coreidae). *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 8: 29-35.
- Genduso, P., Mineo, G., 1973. Difesa del nocciolo dagli artropodi dannosi. II. I parassitoidi oofagi del *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze) e prime osservazioni biologiche. *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 8: 57-70.
- Genduso, P., 1974. Osservazioni sulla morfologia degli stadi preimmaginali e notizie bio-etologiche dell'*Anastatus bifasciatus* (Geoffroy). *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 9: 1-22.
- Genduso, P., Mineo, G., 1974a. Difesa del Nocciuolo dagli artropodi dannosi. IV. L'allevamento permanente in laboratorio del *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze) (Rhynchota-Heteroptera-Coreidae). *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 8: 127-136.
- Genduso, P., Mineo, G., 1974b. Difesa del Nocciuolo dagli artropodi dannosi. X. Ricerche bio-etologiche sul *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze) (Rhynchota-Heteroptera-Coreidae). *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 9: 23-75.
- Guidone, L., 2007. Indagini sull'artropodofauna del nocciolo con particolare riguardo a eterotteri coreidi e pentatomidi e *Curculio nucum* Linnaeus,

responsabili di decrementi quali-quantitativi delle produzioni corilicole. Tesi di dottorato in Entomologia Agraria, Bologna, pp. 111.

Guidone, L., Tavella, L., 2007. Lotta alla cimice del nocciolo, problema ancora da risolvere. *Informatore Agrario*, 24: 72-75.

Hogmire, H.W., Leskey, T.C., 2006. An improved trap for monitoring stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in apple and peach orchards. *Journal of Entomological Science*, 41 (1): 9-21.

Koona, P., Osisanya, E.O., Lajide, L., Jackai, L.E.N., Tamo, M., 2003. Assessment of chemical resistance of wild and cultivated *Vigna* species to the brown pod-bug *Clavigralla tomentosicollis* Stal (Hem., Coreidae). *Journal of Applied Entomology*, 127: 293-298.

Khrimian, A., Fay, H.A.C., Guzman, F., Chauhan, K., Moore, C., Aldrich J.R., 2012. Pheromone of the banana-spotting bug, *Amblypelta lutescens lutescens* Distant (Heteroptera: Coreidae): Identification, synthesis, and field bioassay. *Psyche*, 2012: 1-8 (ID 536149).

Krupke, C.H., Brunner, J.F., Doerr, M.D., Kahn, A.D., 2001. Field attraction of the stink bug *Euschistus conspersus* (Hemiptera: Pentatomidae) to synthetic pheromone-baited host plants. *Journal of Economic Entomology*, 94 (6): 1500-1505.

Leal, W.S., Panizzi, A.R., Niva, C.C., 1994. Alarm pheromone system of leaf-footed bug *Leptoglossus zonatus* (Heteroptera: Coreidae). *Journal of Chemical Ecology*, 20 (5): 1209-1216.

Leal, W.S., Higuchi, H., Mizutani, N., Nakamori, H., Kadosawa, T., Ono, M., 1995. Multifunctional communication in *Riptortus clavatus* (Heteroptera: Alydidae): conspecific nymphs and egg parasitoid *Ooencyrtus nezarae* use the same adult attractant pheromone as chemical cue. *Journal of Chemical Ecology*, 21 (7): 973-985.

Leal, W.S., Ueda, Y., Ono, M., 1996. Attractant pheromone for male rice bug, *Leptocorisa chinensis*: semiochemicals produced by both male and female. *Journal of Chemical Ecology*, 22 (8): 1429-1437.

- Leskey, T.C., Hogmire, H.W., 2005. Monitoring stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in mid-Atlantic apple and peach orchards. *Journal of Economic Entomology*, 98 (1): 143-153.
- Lockwood, J.A., Story, R.N., 1985. Bifunctional pheromone in the first-instar of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae): Its characterization and interaction with other stimuli. *Annals of the Entomological Society of America*, 78: 474-479.
- Lockwood, J.A., Story, R.N., 1987. Defensive secretion of the southern green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) as an alarm pheromone. *Annals of the Entomological Society of America*, 80 (5): 686-691.
- Masutti, L., Zangheri, S., 2001. Entomologia generale e applicata. CEDAM editore, pp. 978.
- Mazzone, P., Ragozzino, A., 2006. Le principali avversità del nocciolo in Campania. *Petria*, 16 (1): 19-30.
- McBrien, H.L., Millar, J.G., 1999. Phytophagous bugs. In: Hardie, J., Minks, A.K., (eds) *Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*. CABI publishing: pp. 277-304.
- Miklas, N., Renou, M., Malosse, I., Malosse, C., 2000. Repeatability of pheromone blend composition in individual males of the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Journal of Chemical Ecology*, 26 (11): 2473-2485.
- Millar, J.G., Rice, R.E., Wang, Q., 1997. Sex pheromone of the mirid bug *Phytocoris relativus*. *Journal of Chemical Ecology*, 23 (7): 1743-1754.
- Millar, J.G., McBrien, H.L., Ho, H.-Y., Rice, R.E., Cullen, E., Zalom, F.G., Üökl, A., 2002. Pentatomid bug pheromones in IPM: possible applications and limitations. *IOBC/wprs Bulletin*, 25: 241-250.
- Millar, J.G., 2005. Pheromones of true bugs. *Topics in Current Chemistry*, 240: 37-84.
- Millar, J.G., McBrien, H.M., McElfresh, J.S., 2010. Field trials of aggregation pheromones for the stink bugs *Chlorochroa uhleri* and *Chlorochroa sayi* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Economical Entomology*, 103 (5): 1603-1612.

- Moraes, M.C., Pareja, M., Laumann, R.A., Borges, M., 2008. The chemical volatiles (Semiochemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*, 37 (5), 489-505.
- Moraglio, S., Guidone, L., Tavella, L., Valentini, N., Me, G., 2009. Susceptibility of hazelnut to the attacks of the nut weevil and other pests. *Acta Horticulturae*, 845: 445-450.
- Moulet, P., 1995. Hémiptères Coreoidea (Coreidae, Rhopalidae, Alydidae), Pyrrhocoridae, Stenocephalidae Euro-Méditerranéens. *Faune de France*, 81: 53-56.
- Panizzi, A.R., 2004. A possible territorial or recognition behavior of *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Hemiptera: Coreidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 48: 577-579.
- Pantaleoni, R.A., Tavella, L., 2006. Gli artropodi utili nei corileti italiani. *Patria*, 16 (1): 135-148.
- Paparatti, B., 2006. Dinamica di popolazione e rilevamento dei danni causati alle nocciole da eterotteri nell'Alto Lazio nel triennio 2001-2003 (Heteroptera). *Frustula Entomologica*, 2005-2006, 28-29: 188-200.
- Pavis, C., 1987. Les sécrétions exocrines des Hétéroptères (allomones et phéromones). Une mise au point bibliographique. *Agronomie*, 7 (8): 547-561.
- Pekár, S., Hrušková, M., 2006. How granivorous *Coreus marginatus* (Heteroptera: Coreidae) recognises its food. *Acta Ethologica*, 9 (1): 26-30.
- Piesik, D., Wenda-Piesik, A., Ligor, M., Buszewski, B., Delaney K.J., 2012. Dock leaf beetle, *Gastrophysa viridula* Deg., herbivory on mossy sorrel, *Rumex confertus* Willd.: induced plant volatiles and beetle orientation responses. *Journal of Agricultural Science*, 4: 97-103.
- Prudic, K.L., Noge, K., Bacteria, J.X., 2008. Adults and nymphs do not smell the same: the different defensive compounds of the giant mesquite bug (*Thasus neocalifornicus*: Coreidae). *Journal of Chemical Ecology*, 34 (6): 734-741.
- Reddy, G.V., Guerrero, A., 2004. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in plant science*, 9 (5): 253-261.

- Renou, M., Guerrero, A., 2000. Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. *Annual Review of Entomology*, 45: 605-630.
- Rodrigues, D., Soares, G.L., Moreira, G.R., 2008. Feeding preference of *Holymenia clavigera* and *Anisoscelis foliacea marginella* (Hemiptera: Coreidae: Anisoscelini) in relation to intra-and interspecific features of host plants (Passifloraceae). *Environmental Entomology*, 37 (5): 1323-1331.
- Ruther, J., Meiners, T., Steidl, J.L.M., 2002. Rich in phenomena-lacking in terms. A classification of kairomones. *Chemoecology*, 12: 161-167.
- Ryan, M.A., Moore, C.J., Walter, G.H., 1995. Individual variation in pheromone composition in *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae): how valid is the basis for designating “pheromone strains”? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111 (2): 189-193.
- Schaefer, C.W.; Mitchell, P.L., 1983: Food plants of the Coreoidea (Hemiptera: Heteroptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 76 (4): 591-615.
- Scortichini, M., 2006. Le principali avversità del nocciolo nel Lazio. *Petria*, 16 (1): 31-44.
- Siscaro, G., Longo, S., Catara, V., Cirvilleri, G., 2006. Le principali avversità del nocciolo in Sicilia. *Petria*, 16 (1): 59-70.
- Tavella, L., Sonnati, C., Arzone, A., 2001a. Rilevamento di coreidi e pentatomidi in corileti piemontesi (Heteroptera). *Informatore Fitopatologico*, 51 (3): 55-59.
- Tavella, L., Arzone, A., Miaja, M.L., Sonnati, C., 2001b. Influence of bug (Heteroptera, Coreidae and Pentatomidae) feeding activity on hazelnut in northwestern Italy. *Acta Horticulturae*, 556: 461-468.
- Tavella, L., Migliardi, M., Sonnati, C., Miaja, M.L., 2003. Effetti dell'attività trofica delle cimici (Heteroptera Coreidae e Pentatomide) in relazione al periodo di attacco. *Informatore Fitopatologico*, 43 (11): 47-51.
- Tavella, L., Gianetti, G., 2006. Le principali avversità del nocciolo in Piemonte. *Petria*, 16 (1): 45-58.

- Tuncer, C., 2009. Arthropod pest management in organic hazelnut growing. *Acta Horticulturae*, 845:571-578.
- Vaccino, P., Guidone, L., Corbellini, M., Tavella, L., 2008. Detection of damage due to bug feeding on hazelnut and wheat by biochemical techniques. *Bulletin of Insectology*, 61: 189-190.
- Ventura, M.U.; Panizzi, A.R., 2004. Responses of *Neomegalotomus parvus* (Hemiptera: Alydidae) to color and male-lured traps. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47 (4): 531-535.
- Viggiani, G., Mineo, G., 1974. Identificazione di parassitoidi del *Gonocerus acuteangulatus* (Goeze). *Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo*, 8: 143-163.
- Viggiani, G., Mazzone, P., 1976. Osservazioni sugli Eterotteri dannosi alle nocciole in Campania. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri*, 33: 241-258.
- Viggiani, G., 1994. Stato attuale della difesa fitosanitaria del nocciolo. *Acta Horticulturae*, 351: 531-541.
- Vogt, E.A., Nechols, J.R., 1993. Response of the squash bug (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitoid, *Gryon pennsylvanicum* (Hymenoptera: Scelionidae) to three *Cucurbita* cultivars. *Environmental Entomology*, 22: 238-245.
- Wang, Q., Millar, J.G., 2000. Mating behavior and evidence for male-produced sex pheromones in *Leptoglossus clypealis* (Heteroptera: Coreidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93 (4): 972-976.
- Yamanaka, T., Teshiba, M., Tuda, M., Tsutsumi, T., 2011. Possible use of synthetic aggregation pheromones to control stinkbug *Plautia stali* in kaki persimmon orchards. *Agricultural and Forest Entomology*, 13 (3): 321-331.
- Yasuda, K., 1998. Function of the male pheromone of the leaf-footed plant bug, *Leptoglossus australis* (Fabricius) (Heteroptera: Coreidae) and its kairomonal effect. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 32: 161-165.